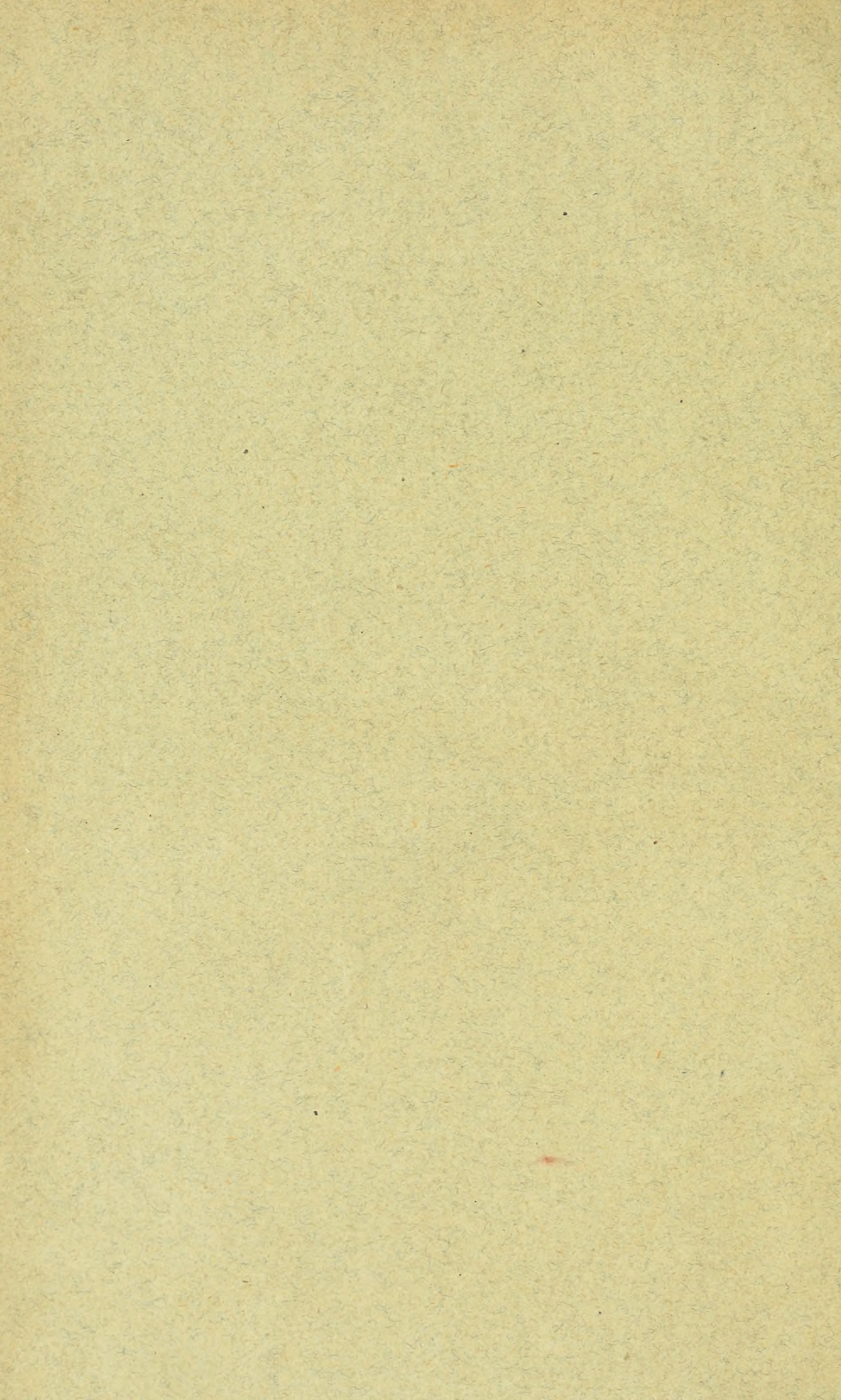












ZEITSCHRIFT

FÜR

WISSENSCHAFTLICHE

MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. Paul Schiefferdecker und **Dr. E. Sommerfeldt**

in Bonn — in Tübingen

herausgegeben

von

Dr. ERNST KÜSTER

in Halle a. S.

Band XXII

(Jahrgang 1905)

Mit 3 Lichtdrucktafeln, 1 Steindrucktafel und 44 Holzschnitten

---

LEIPZIG

Verlag von S. Hirzel

1905

Inhaltsverzeichnis.

I. Abhandlungen.

II. Referate.

Verzeichnis der Mitarbeiter
an Band XXII.

Dr. G. Arndt in München.
Prof. Dr. H. Ambronn in Jena.
E. Arbeit in Wetzlar.
Dr. E. A. Bessey in Miami (Florida).
C. F. Bödecker in Berlin.
Dr. G. Cagnetto in Padua.
Dr. Di Cristina in Berlin.
Dr. P. Fiorentini in Messina.
Prof. Dr. Alfr. Fischer in Basel.
H. Freund in Halle a. S.
Prof. Dr. F. C. C. Hansen in Kopenhagen.
Prof. Dr. M. Heidenhain in Tübingen.
Dr. O. Henker in Jena.
Prof. Henneberg in Gießen.
Dr. W. Hoffmann in Berlin.
Dr. J. Just in Prag.
P. Konaschko in Kiew.
Dr. E. Küster in Halle a. S.
Dr. O. Levy in Halle a. S.
Dr. K. Melissinos in Athen.

Dr. C. Metz in Wetzlar.
Dr. L. Neumayer in München.
A. Pauly in Wien.
Prof. W. Pavlow in Charkow.
Prof. Dr. K. Peter in Greifswald.
Dr. O. Richter in Prag.
Dr. Vl. Růžička in Prag.
Prof. Dr. P. Schiefferdecker in Bonn.
Prof. Dr. H. Schmaus † in München.
Dr. J. Schneider in Prag.
Dr. E. Schoebel in Neapel.
Dr. S. L. Schouten in Utrecht.
Dr. G. Seliber in Paris-Charlottenburg.
Dr. A. Siding in Wien.
M. Signer in Messina.
Dr. E. Sommerfeldt in Tübingen.
Prof. Dr. K. Strehl in Erlangen.
Prof. Dr. H. Triepel in Greifswald-Breslau.
W. Wangerin in Halle a. S.



Band XXII. Heft 1.

Beugungsbild und Absorptionsbild.

Von

Karl Strehl

in Erlangen.

In meiner Abhandlung: „Theorie der allgemeinen mikroskopischen Abbildung“ (Erlangen, 1900), welche scheinbar fast unbemerkt geblieben ist, habe ich gezeigt, daß es nur eine Theorie der optischen Instrumente gibt, die Beugungstheorie, und daß die sogenannten Theorien von Abbe und Rayleigh nur formal, nicht sachlich verschiedene Betrachtungsweisen vorstellen, so wie man z. B. auf dem Gebiete der Geometrie eine analytische und eine synthetische Methode der Behandlung kennt. Die Wirkungsweise des Mikroskops ist so wenig anders wie die des Fernrohrs, daß wenn z. B. ein Planet — etwa Mars — gitterförmiges Detail nach Art einer Diatomee zeigen würde, dann annähernd die Abbesche „Theorie“ anwendbar wäre.[1] Der Unterschied ist nur der, daß die Art der Beleuchtung des Planeten durch die Sonne eine Resultante aller möglichen Phasen erzeugt, während bei der Diatomee die Beleuchtungsweise mit streng gleicher Phase möglich ist. Es handelt sich mithin nicht um dies, welche Anschauungsweise die richtige sei, nur um das, welche in jedem einzelnen Fall leichter zum Resultat führt.

Um so merkwürdiger mußte es mich berühren, als ich in „Dr. A. Winkelmann: Handbuch der Physik 2. Aufl. VI. Bd. 1. Hälfte, Optik I“ p. 380 das Werk: „Stefan Apáthy: Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie 2. Abt.“ (Leipzig, 1901) zitiert fand, von welchem es heißt, daß es „die Abbesche Theorie

---

[1]) Vgl. Zentralz. f. Optik u. Mech. Bd. XXVI, 1905, No. 6.

der mikroskopischen Bilderzeugung bestreitet". Es schien lohnenswert, das Werk kommen zu lassen, und ich bin für die Mühe der Durchsicht einigermaßen auf meine Kosten gekommen mit dem Erfolg, daß ich im nachstehenden eine kritische Würdigung der Anschauungen Apáthy's bieten will, in dem Sinne, daß ich nicht sowohl bei den zahllosen Einzelsätzen und fortgesetzten Wiederholungen des Verfassers jeden einzelnen Satz bestätigen oder bestreiten werde — dies würde Bände geben — wie vielmehr die meiner Ansicht nach wichtigsten Punkte herausgreifend gleich meine Meinung kundgeben möchte, wobei in Klammer hinten die Seitenzahl bei Apáthy bezw. Abbe beigefügt wird.

Zunächst kann ich feststellen: Apáthy leugnet nicht die Abbesche Theorie, er schränkt sie nur ein (517). Er ist nämlich der Ansicht, daß das gewöhnliche mikroskopische Bild gleichsam eine Übereinanderlagerung von drei der Art nach gänzlich verschiedenen Bildern sei, einem Beugungsbild im Sinne Abbes, einem Refraktionsbild und einem Absorptionsbild, welch' letzterem Apáthy den Vorzug gibt.

I. Beugungstheorie und geometrische Optik.

Eine Erörterung der theoretischen Verhältnisse erscheint schon um so mehr angebracht, als bis auf diesen Tag Mängel der Theorie, Mißverständnisse und Vermischung von Beugungstheorie und geometrischer Optik sich die Hand reichen.

So hat z. B. der Begriff: „schmaler Lichtkegel" Verwirrung erzeugt. In dem Werk: „Gesammelte Abhandlungen von Ernst Abbe" dürfte der Satz (291): „. . . nun war aber ohne jede weitere Rechnung sogleich einleuchtend, daß der immer anwachsende Beugungseffekt bei fortschreitender Verringerung des einfallenden Lichtkegels . . . jedenfalls bei solchen schmalen Beleuchtungskegeln das der vollen Öffnung zugängliche Detail längst ausgelöscht haben mußte" Mißverständnissen ausgesetzt gewesen sein. Hier muß ich gleich bemerken, daß es eine Wirkung dieses „schmalen Lichtkegels" überhaupt nicht geben kann, mithin auch keine Beugungswirkung (513), weil er nur ein Phantom der geometrischen Optik ist, vergleichbar einem aus je einem Soldaten aller Nationen der Erde zusammengewürfelten Bataillon. Beugungstheoretisch dürfen stets nur solche Strahlen zusammengefaßt werden, welche kohärent d. h. interferenzfähig sind

und erzeugen auch bei selbstleuchtenden Objekten nur kohärente von einem Lichtpunkt ausgehende Strahlen den Bildpunkt (519).

Es ist z. B. falsch, daß bei sphärischer Aberration je nach Einstellung verschiedene Ordnungen von Beugungsspektren zur Wirkung kommen (566). Stets kommen alle Beugungsspektra, jedoch in verschiedener sich störender oder gar zerstörender Weise zur Wirkung.

Mit Recht rügt Apáthy, daß Abbe die Sehtiefe ohne Rücksicht auf die Theorie der sekundären Abbildung d. h. eben die Beugungstheorie behandelt (530). In meiner eingangs erwähnten Schrift ist dem Mangel abgeholfen.

Am merkwürdigsten dürfte sein, daß man zwar seit Abbe eine Erklärung der Wirkung von Mikroskopobjektiven auf beugungstheoretischer Grundlage — freilich nur ganz allgemein — hatte, die Konstruktion und Untersuchung derselben aber meines Wissens bis vor kurzem nach den Anschauungen der geometrischen Optik geschah. Hier sucht meine Studie: „Untersuchung eines Mikroskopobjektives“ (Zeitschr. f. Instrumentenkunde Bd. XXV, 1905, p. 3) Wandel zu schaffen.

II. Beugungsbild.

1. Existenz der „Öffnungsbeugung“.

Abbe scheint mit dem Satz (293): „. . . daß bei der Abbildung. . . mittels durchfallender oder reflektierter Strahlen eine Öffnungsbeugung . . . überhaupt nicht eintreten kann, daß eine solche vielmehr prinzipiell auf den Fall selbstleuchtender Objekte beschränkt ist“ die vom Fernrohrobjektiv her bekannte Öffnungsbeugung d. h. nicht etwa mißverstandenerweise die Beugung der Strahlen am materiellen Rand der Fassung, sondern den für die Größe des Bildpunktes wichtigen Umstand, daß die Glasscheiben nicht unbegrenzt groß sind, ausdrücklich geleugnet zu haben (504). Rayleigh gründet seine „Theorie“ auf diese Öffnungsbeugung. Tatsächlich existiert diese auch beim Mikroskop; denn was ist der Umstand, daß der die num. Ap. bestimmende Rand der Fassung in der hinteren Brennebene des Objektives die Beugungsspektra höherer Ordnung abschneidet, mithin nur der mehr oder minder große mittlere Teil der ganzen Beugungsfigur zur Wirkung kommt, anders als eben Öffnungsbeugung? Man darf nur nicht vergessen, daß es neben den

Maxima 1. Ordnung — nicht zu verwechseln mit den Ordnungen der Beugungsspektra; dies sind lauter Max. 1. Ordnung — schon im einfachsten Fall auch solche 2. Ordnung gibt, ja strenggenommen die Beugungsfigur stets kontinuierlich ist (512). Je mehr von dieser abgeschnitten wird, desto schlechter wird die Abbildung. Es tut gar nichts zur Sache, ob ich statt der hinteren Brennebene des Objektives die Austrittspupille des ganzen Mikroskops über dem Okular zu Rate ziehe. Ich bitte nur zu beachten, daß dort dieselben Beugungsspektra nur in kleinem Maßstab sich wieder finden (506). Wenn man die Austrittspupille verkleinert, dann werden Beugungsspektra abgeschnitten (507).

2. Beseitigung der „Öffnungsbeugung“.

Apáthy bemüht sich mit der Frage der Beseitigung der Öffnungsbeugung. Diese kann natürlich nicht beseitigt werden (521, bezw. 490), denn sie hängt mit der Art der Bilderzeugung zusammen: Objektive von unendlicher linearer Öffnung bei endlicher Tubuslänge, bezw. unendlich kleine Wellenlängen gibt es eben nicht. Apáthy hält es für nützlich die Lichtquelle in die Objektivöffnung zu projizieren (520). Allein auch in diesem Falle kann das Bild nicht als ein Schattenbild nach geometrisch-optischen Gesetzen aufgefaßt werden, vielmehr wird jede Stelle des Präparates zu einem sekundären Lichtpunkt; wo die Beleuchtungsstrahlen an und für sich ihren Schnittpunkt haben, ändert an der Sache gar nichts. Der ganze Unterschied wäre der: Bei Projektion der Lichtquelle in die Objektivöffnung wird ein großer Teil des Präparats mit kohärentem Licht von kontinuierlich sich ändernder Phase beleuchtet. Bei Projektion einer selbstleuchtenden Lichtquelle in die Präparatebene leuchtet das Präparat Stelle für Stelle mit gegenseitig inkohärentem Licht. Ob wirklich erstere Beleuchtungsart — vielleicht infolge von der über das Präparat wandernden Phasenverschiebung — einen nennenswerten Vorteil ergibt, möchte ich dahingestellt sein lassen: Die Öffnungsbeugung wird weder so noch anders beseitigt.

III. Refraktionsbild.

1. Schiefe Beleuchtung.

Hier möchte ich zeigen, daß wenn schiefe Beleuchtung bei dickem Präparat ganz seltsame Dinge zeigt, man dann nicht erst auf das Refraktionsbild zurückkommen muß, dies vielmehr beugungstheoretisch so sein muß.

a) Streifenlose Schichten.

Setzen wir voraus, das Präparat bestehe aus strukturlosen durchscheinenden Schichten parallel zur Tischebene mit den Abständen λ. Wenn wir gerade Beleuchtung mit enger Blende verwenden, dann erblicken wir ohne Okular nur ein weißes ungebeugtes Hauptmaximum ohne jedes Beugungsspektrum — vorausgesetzt ist natürlich ein Objektiv von der num. Ap. = 1, mit Okular ein gleichförmiges Gesichtsfeld. Wenn wir hingegen äußerst schiefe, d. h. wagrechte Beleuchtung verwenden, dann wirkt das Präparat als Gitter und sendet neben dem jetzt am Rand zu liegen kommenden weißen ungebeugten Hauptmaximum mindestens noch ein hier in die Achse fallendes Beugungsspektrum in das Objektiv: wir erblicken eine zur Verbindungsstrecke senkrechte Streifung.

b) Schichtenlose Streifen.

Setzen wir als Präparat strukturlose Streifen (im Sinne von Papier-„streifen") senkrecht zur Tischebene mit den Abständen λ voraus. Bei gerader Beleuchtung erblicken wir unter Verwendung eines Objektivs von der num. Ap. = 1 natürlich ohne Okular ein weißes ungebeugtes Hauptmaximum in der Achse und beiderseits am Rand je ein Beugungsspektrum, mit Okular ein Bild der Streifung. Bei äußerst schiefer (wagrechter) Beleuchtung kann das Präparat nicht als Beugungsgitter wirken, wir erblicken ohne Okular nur ein weißes ungebeugtes Hauptmaximum am Rand, mit Okular ein gleichförmiges Gesichtsfeld. Daß man in Wirklichkeit auch in diesem Fall die Streifung sieht, kommt davon her, daß die notwendigen Bedingungen sich schwer rein verwirklichen lassen; daß man für gewöhnlich bei sehr schiefer Beleuchtung Streifungen äußerst scharf sieht, hängt mit andern Verhältnissen zusammen, d. h. man sollte sie eigentlich

bei gerader Beleuchtung ebenso scharf sehen, wären nicht hindernde Umstände vorhanden.

Wir sehen, schiefe Beleuchtung neigt dazu, an Stelle der Struktur parallel zur Tischebene beim dicken Präparat die Struktur senkrecht zur Tischebene zu zeigen. Wenn es auch nicht dazu kommt, daß erstere ausgelöscht wird, dann wird es doch vorkommen, daß letztere sich störend einmischt, und dies selbst bei gerader Beleuchtung am Rand dicker Präparate aus dem umgekehrten Grunde. Ich bin deshalb mit Abbe entschieden der Ansicht, daß dünne Präparate und gerade Beleuchtung die wissenschaftliche Normalbeobachtungsform ist.

2. Refraktionsbild.

Gleichwohl will ich Apáthy nicht unrecht geben; es gibt zweifelsohne Wirkungen der Absorption (Schatten), Brechung, totalen und partiellen Reflexion (Richtungsänderung), Verzögerung (Phasenänderung) im Präparat (574). Nur darf man sich ja nicht vorstellen, daß diese Prozesse im Gebiete der Größenordnung der Wellenlänge auch durchaus so verlaufen müssen, wie an Objekten von endlicher Größe.

Die Experimente von Braun (Nachahmung der elektrischen Versuche von Hertz mit Lichtwellen an mikroskopischen Gittern) haben vielmehr ergeben, daß je nach der Größe der Gitterkonstante die Polarisation bald senkrecht, bald parallel zu den Gitterstäben verläuft. Theoretische Untersuchungen über die Polarisation des Lichtes bei Spiegelung an Kugeln von der Größe λ ergaben verschiedene Resultate bezüglich des günstigsten Polarisationswinkels für Kugeln aus Metall und Kugeln aus dielektrischen Stoffen. Praktische Untersuchungen ergaben eine verschiedene Reflexions- bezw. Zerstreuungsfähigkeit an Kugeln von der Größe einer Wellenlänge und Kugeln, welche klein gegen λ sind (Rayleigh). Durch Moleküle geht das Licht möglicherweise ohne Richtungsänderung, nur geschwächt und freilich mit Phasenänderung, hindurch.

Ich bin der Ansicht: Wie sich elektrische Wellen gegen Objekte von gewöhnlicher Größe verhalten, so verhalten sich Lichtwellen gegen mikroskopische Objekte. Die Durchleuchtung mikroskopischer Präparate ist ein Abbild im kleinen der Telegraphie ohne Draht durch Hindernisse. Aus letzterer wird man vielleicht noch bezw. erst viel über erstere erfahren.

IV. Absorptionsbild.

Nach Apáthy sind die beiden Bedingungen des reinen Absorptionsbildes: 1) Die Lichtbrechungen im Objekt müssen ausgeglichen werden. 2) Beleuchtung mit voller Apertur (572).

1. Färbungsbild.

Daß sich die Zwischen- und Querscheiben beim quergestreiften Muskel färben lassen, halte auch ich für sehr wichtig (582). Nur muß man berücksichtigen, daß verschiedene Färbbarkeit bezw. sogar Färbung nicht immer Anzeichen stofflicher Verschiedenheit, manchmal nur von verschiedener Dichtigkeit sein wird.

Abbes Unterscheidung zwischen Absorptionsbild und Strukturbild, die er später glücklich fallen ließ, denn beides sind Beugungsbilder, hat gar nichts zu tun mit Apáthys Färbungsbild (508).

2. Selbstleuchtendes Bild.

Wenn man mit einem Kondensor von größerer Apertur als das Objektiv das Bild einer selbstleuchtenden Lichtquelle in die Präparatebene wirft, dann leuchtet jede noch auflösbare Stelle mit eigenem (inkohärentem) Licht. Auch dies ist gleichsam ein Färbungsbild, nur für gewöhnlich arm an Farben: hell und dunkel. Auf diese Weise betrachtet man ja die Bakterien. Indem Apáthy nach Möglichkeit färbt, macht er sich von der Bedingung des Selbstleuchtens frei; denn z. B. ein rotes Korn und ein blaues Korn nebeneinander leuchten auch mit gegenseitig interferenzunfähigem Licht.

Durch die Aufhellung des Präparates (Beseitigung von allen Lichtbrechungen) sucht Apáthy Störungen fernzuhalten, durch Beleuchtung mit voller Apertur das leider durch die Aberrationen der Objektive getrübte Maximum des Auflösungsvermögens zu erzielen. Dieser Weg ist rationell.

V. Vergleichung (Mischbild).

Für gewöhnlich hat man nun nach Apáthy eine Mischung von Beugung (im engeren Sinne), Refraktion (im weitesten Sinne) und

Absorption. Diesen gestörten Durchgang des Lichtes durch ein Präparat nannte ich in meiner Abhandlung „Beugung“ schlechthin.

Je nachdem man Planspiegel, Hohlspiegel, direkte oder indirekte Lichtquelle, Kondensor mit großer oder kleiner Öffnung und scharfer oder unscharfer Einstellung verwendet, wird die Wirkung verschieden (554), indem bald mehr, bald weniger benachbarte Elemente mit kohärentem Lichte von größerer oder kleinerer Phasendifferenz beleuchtet werden. Rechnerisch ist nichts unmöglich, nur müßte man stets die Bedingungen genau kennen und ist die Rechnung nicht immer kurz. Helmholtz, Abbe, Rayleigh behandelten in ihrer „Theorie“ ja nur die allereinfachsten Sonderfälle. Ich bin systematisch weiter gegangen, soweit dies einen Sinn hat. Bei den komplizierten Beobachtungsfällen heißt es eben: „Probieren geht über Studieren.“

1. Auflösungsvermögen.

Isolierte helle Objekte sind bei genügend intensiver Beleuchtung bis fast zur Eiweißmolekülgröße herab sichtbar.

Isolierte dunkle Objekte erfordern eine gewisse Größe, um sichtbar zu sein (vgl. meine demnächst in der Instrumentenkunde erscheinende „Astrophotometrie“).

Etwas anders ist die Trennung mehrerer Objekte, und wieder verschieden die von 2 oder ∞ vielen, beleuchteten oder selbstleuchtenden, Punkten oder Geraden oder Flächen, hellen auf dunklem oder dunklen auf hellem Grund. All diese Fälle habe ich längst berechnet. Mikroskop oder Fernrohr macht hier keinen Unterschied. Sehr verschieden sind die Werte im allgemeinen nicht (582).

Apáthys Absorptionsbild ergibt dem allgemeinen Auflösungsvermögen nach keine Verbesserung. Wenn ein rotes und ein grünes Korn in nicht mehr auflösbarem Abstand nebeneinander liegen, dann verschmelzen eben das runde rote und das runde grüne zu einem links rot, in der Mitte weiß, rechts grün gefärbtem ovalen Beugungsscheibchen (553). Gewonnen wird hierdurch im wesentlichen nichts.

2. Objektähnlichkeit.

Die Erklärung der verschiedenen Pleurosigmabilder blieb nicht etwa bei einem vergeblichen Versuch stehen (567); ich empfehle

diesbezüglich das Studium meiner Abhandlung: „Das Pleurosigmabild“ (Zeitschr. f. Instrumentenkunde XIX, p. 325, 1899).

Daß das Beugungsbild zu zahllosen Täuschungen Anlaß gibt, ist nicht neu und längst erörtert, besonders der Begriff „Tiefenbild“. Es fand denn auch Apáthy bei Triceratium und verschiedener Einstellung nicht weniger als 15 Bilder, welche von der Lage der Schale nicht abhängen, und 2, welche bei Umwendung derselben umgekehrte Einstellung erfordern (514).

Ich halte es für glaubhaft, daß Apáthys Färbungsbild nach der Seite der Objektähnlichkeit einen Fortschritt darstellt, und daß er auf diese Weise neue und wichtige Resultate fand, ohne die letzteren selbst beurteilen zu können.

Wenn Abbe sagt (291), „denn beim wirklichen Gebrauch stärkerer Objektive hatte ich, außer für ganz exzeptionelle Zwecke, niemals eine andere (Beleuchtung) in Anwendung, oder auch nur mit Vorteil anwendbar gefunden“, dann möchte ich bemerken, daß Abbe in erster Linie Physiker war, auch daß sich sein „schmaler Lichtkegel“ auf die Unterscheidung an dünnen Präparaten bezog (510).

VI. Beleuchtungsstärke.

„Planspiegel“ ist nichts anderes als „Lochblende“ bei direkt gegen eine Lichtquelle gehaltenem Tubus.

„Hohlspiegel“ ist nichts anderes als „Planspiegel + Linse“.

Der allgemeinste Fall ist theoretisch eine Linse vom Öffnungshalbmesser r und der Brennweite f, im Abstand d vom Präparat, das Mikroskop direkt auf eine (runde) Lichtquelle von der halben Winkelöffnung φ und dem spezifischen Leuchtvermögen ε gerichtet.

Die in 1 sec durch 1 qmm der Linsenöffnung gehende Lichtmenge ist proportional $\varepsilon \sin^2 \varphi$; wäre keine Linse da, wäre dies die Wirkung des Planspiegels auf die Präparatebene (vorausgesetzt, daß vom Präparat aus die ganze Lichtquelle durch den Planspiegel übersehbar ist; außerdem hätte man φ eben zu reduzieren).

Die durch die Linse eintretende Lichtmenge $\varepsilon \sin^2 \varphi \cdot r^2 \pi$ (wobei alles in mm zu messen) wird konzentriert auf die Kreisfläche $s^2 \pi$ in der Präparatebene. Die Wirkung des Kondensors auf die Präparatebene ist mithin $\varepsilon \sin^2 \varphi \cdot r^2/s^2$; um s zu berechnen, setze man zunächst $\sigma = f \cdot \tan \varphi$ = Radius des Bildes der Lichtquelle und hat

schließlich $s = r - (r - \sigma) \cdot d/f$; bei scharfer Einstellung des Kondensors ist die Wirkung auf die Präparatebene $\varepsilon \sin^2 \varphi \cdot r^2/\sigma^2$.

Schließlich möchte ich noch erwähnen, daß der Kondensor den Wolkenhimmel oder staubige Fenster mehr oder minder scharf in der Präparatebene abbildet und aus diesem rein praktischen Grund oft Anlaß zu schlechten Bildern gibt.

[Eingegangen am 24. Februar 1905.]

[Aus dem botanischen und dem hygienischen Institut der Universität in Utrecht.]

Reinkulturen aus einer unter dem Mikroskop isolierten Zelle.

Von

Dr. S. L. Schouten
in Utrecht.

Hierzu dreizehn Holzschnitte.

Einleitung.

Kochs Plattenkulturmethode ist es zu danken, daß das Studium der Mikroorganismen und speziell die Bakteriologie in der letzten Zeit so außerordentliche Fortschritte gemacht haben. Aber dennoch ist die Herstellung einer Reinkultur vieler Mikroorganismen noch ein ungelöstes Rätsel.

Viele Forscher werden meinen, dieses sei nicht die Folge eines Mangels, welchen diese Methode als solche hat, sondern es hänge vielmehr damit zusammen, daß die richtige Zusammensetzung des Nährbodens in solchen Fällen noch unbekannt ist. Sie denken, daß die Herstellung einer Reinkultur vermittels der Plattenkulturmethode sicherlich gelingen wird, wenn diese erst gefunden ist.

Obgleich es mir selbstverständlich fern liegt, Kochs geniale Erfindung auch nur im geringsten zu bekritteln, ich vielmehr ihren

Wert voll anerkenne, glaube ich doch, daß obige Meinung falsch ist, und daß im Verfahren selbst die Ursache dafür liegen kann, daß es bisher bei vielen Mikroorganismen resultatlos verwendet wurde.

Das ist z. B. der Fall bei verschiedenen größeren Organismen, welche in Medien vorkommen, worin sich zugleich viel Bakterien befinden, wie Amöben, Infusorien, große Sporen von Pilzen, von Myxomyceten etc. Ich glaube, daß die Reinkultur solcher Organismen oft deshalb mißglückt ist, weil es außerordentlich schwierig ist, sie durch Schütteln (der Hauptfaktor der Plattenkulturmethode) von den Bakterien zu befreien, die in ihrer unmittelbaren Nähe liegen oder auf ihrer Außenseite festsitzen; die Folge ist, daß wohl Kolonien entstehen, aber daß nach kürzerer oder längerer Zeit sich doch die Verunreinigungen durch Bakterien zeigen.

Auch ist es möglich, daß die chemischen Eigenschaften der Gelatine als solche schädlich auf die Entwicklung wirken. Das ist z. B. durch Winogradsky bewiesen für die Nitrit- und Nitrat-bildenden Bakterien in der Erde. Diese können auf Nährböden, welche reich an organischen Nährstoffen sind, nicht gedeihen. Es ist durchaus nicht gewagt, a priori anzunehmen, daß dies mit mehreren Arten von Bakterien der Fall ist, welche man bisher noch nicht in Reinzucht hat gewinnen können.

Endlich kann vielleicht die physische Natur der Gelatine, nämlich die Tatsache, daß sie einen festen Nährboden liefert, der Grund sein für die negativen Resultate, die man bisher bei einigen Organismen erzielt hat. Wenn diese nämlich in der Natur nur in flüssigen Medien vorkommen und auch ihr Bau (z. B. der Besitz von Cilien) und ihre Lebensverrichtungen (z. B. schnelle Bewegung) verraten, daß sie speziell für flüssige Medien geeignet sind, dann wird man sich a priori nicht wundern, daß man unter ihnen einige findet, die auf einem festen Nährboden weniger gut oder überhaupt nicht wachsen können. Das kann z. B. zugleich mit den oben angegebenen Gründen eine der Ursachen sein, daß Amöben und Myxomyceten, die in ihrer Entwicklung ein Schwärmerstadium durchlaufen, sowie Infusorien und viele Bakterien, die sehr beweglich sind, noch nicht rein gezüchtet werden konnten.

Doch, was auch die Gründe sein mögen, es ist eine Tatsache, daß man von vielen Organismen auf keinerlei Weise, auch nicht vermittels der Plattenkulturmethode, eine Reinkultur hat herstellen können.

Diese und andere Gründe ließen es mir als nicht überflüssig erscheinen, auf dem Gebiete der Reinkulturtechnik einmal einen ganz neuen Weg zu versuchen und zu sehen, zu welchen Resultaten ich damit kommen würde.

Die Resultate sind in kurzen Worten folgende. Man kann mit Hilfe von feinen Glasnadeln, deren Bewegung vermittels einer bestimmten Mechanik vollständig geregelt wird, aus einem Gemenge verschiedener Mikroorganismen einen beliebigen isolieren und auf einen Nährboden überführen. Zu diesem Zweck bringt man von dem Material, aus dem man eine Zelle isolieren will, einen Tropfen auf ein Deckglas und daneben in einigem Abstand einen Tropfen von dem Nährboden, in welchem die Kultur entstehen soll. Das Deckglas wird auf eine feuchte Kammer gelegt, die sich auf dem Objekttisch des Mikroskops befindet, und durch deren Seitenwände man die genannten Nadeln so gestochen hat, daß sie mit ihren Spitzen das Deckglas berühren können. Vermittels der Nadeln kann man nun mit der stärksten Vergrößerung eine Bakterie oder eine andere Zelle aus dem Tropfen isolieren und in einen andern überführen. Danach wird das Deckglas auf eine einfache feuchte Kammer gelegt, die, wenn nötig, in einen Brutschrank gesetzt werden kann. Das Wachstum der Kolonie kann von Anfang an dann auch mit der stärksten Vergrößerung beobachtet werden.

Nicht nur für den oben beschriebenen Zweck, die Gewinnung von Reinkulturen im allgemeinen, sondern auch für viele andere Probleme, welche man nicht im voraus zu bestimmen imstande ist, kann die neue Methode nützlich sein. Es muß doch im allgemeinen von großem Interesse sein, daß man jetzt eine Bakterie oder etwaige andere Mikroorganismen ebensogut „aussäen" kann als eine höhere Pflanze, daß man ihre Entwicklung von Anfang an beobachten, daß man sie, mit einem Wort, individuell behandeln kann.

Auf ein Problem, für welches ich die Methode besonders geeignet halte, und worüber ich weiter unten einige Versuche mitteilen werde, will ich schon jetzt weisen. Ich meine das der Variabilität und der Pleomorphie. Jedermann muß zugeben, daß auf diesem Gebiete noch viel methodisch gearbeitet werden muß. Wer nur ein wenig tiefer in die Bakteriologie und speziell in die bakteriologische Systematik eindringt, wird zu dem traurigen Schluß kommen, daß durch die unmethodischen Arbeiten vieler Forscher der letzten Jahre das Material wie in einem Augiasstalle aufgehäuft ist. Es wäre wünschenswert, daß man endlich einmal ein Ende

machte mit dem oft ganz unmotivierten Beschreiben „neuer“ Arten. Viele Forscher, welche jetzt irgendwo eine Bakterie finden, stellen eine Kulturplatte dar, beobachten das Wachstum auf einigen der gebräuchlichsten Nährböden und warten ab, ob sie eine Ähnlichkeit mit einer schon bestehenden Art konstatieren können. Finden sie diese nicht gleich bei ihren ersten Versuchen, dann glauben sie der Wissenschaft wunders einen Dienst zu erweisen, wenn sie die „neue“ Art, begleitet von einer Diagnose, die in gar vieler Beziehung dunkel ist oder größtenteils sich in allgemeinen Ausdrücken bewegt, in die Welt schicken. Darum aber bekümmern sie sich nicht, welchen ändernden Einfluß etwa frühere Lebensumstände auf die gefundene Bakterie gehabt haben können, oder welche Modifikationen die von ihnen verwendeten Nährböden imstande sind noch zu verursachen. Und das sind doch, neben vielen andern, immerhin sehr belangreiche Faktoren. Daher kommt es, daß man viele Arten, die man anfänglich als verschieden ansah, später doch als gleich beurteilen lernte, daß man es mit andern Worten mit pleomorphen Formen zu tun gehabt hatte, und daß man anderseits Arten, die man früher für gleich angesehen hatte, scheiden mußte.

Wie dem auch sei, es herrscht eine entsetzliche Verwirrung auf dem Gebiete der bakteriologischen Systematik, einmal infolge der großen Schwierigkeiten, die das zu bearbeitende Material selbst für den kundigsten Forscher hat, dann infolge des unachtsamen und flüchtigen Arbeitens anderer. Will man dieser Verwirrung so viel als möglich Einhalt tun, dann muß vor allem die Variabilität und der Pleomorphismus gründlich studiert werden. Und für ein solches Studium ist es notwendig, darüber durchaus sicher zu sein, daß man bei der Herstellung der Reinkultur auch wirklich von nur einer Zelle ausgegangen ist.

Ferner muß man unbedingt jede folgende Generation für sich untersuchen können, wenn man einen Mikroorganismus sich unter veränderten äußeren Umständen teilen läßt, ebensogut wie man bei höheren Pflanzen alle aufeinander folgenden Generationen auf diesen Punkt untersuchen kann. Wenn man z. B. dem nachgehen will, was für einen verändernden Einfluß eine sauere Nährflüssigkeit auf einen bestimmten einzelligen Organismus a hat, dann muß man a sich in der saueren Flüssigkeit in zwei Zellen $a_1 + a_1$ teilen lassen können, die eine Zelle a_1 sofort auf einen gewöhnlichen Nährboden bringen, die andere sich wiederum in $a_2 + a_2$ teilen lassen können. Danach muß man wieder die eine Zelle a_2 auf denselben gewöhnlichen Nähr-

boden bringen, und die andere sich wiederum zu $a_3 + a_3$ teilen lassen, etc. Auf solche Weise erhält man Kulturen der aufeinander folgenden Generationen a_1, a_2, a_3 etc., und kann studieren, inwieweit die veränderten Formen allmählich ineinander übergehen oder auch sprungweise durch Mutation auseinander entstanden sind.

Ich bilde mir durchaus nicht ein, daß diese meine Methode ein Mittel ist, mit der man alle möglichen Reinkulturen herstellen kann (denn welche Methode ist überhaupt unbegrenzt brauchbar!), oder daß sie gar die schon bestehende Reinkulturmethode, die in so vieler Beziehung ausgezeichnete Plattenkulturmethode verdrängen wird. Ich kann mir sehr gut Fälle vorstellen, in denen sie nicht bequem, vielleicht gar nicht anwendbar ist, z. B. wenn die Bakterien sich zwischen sehr feinen, aus Stäbchen und kleinen Partikelchen bestehenden Detritus befinden. Mein Ziel ist nur, sie anzuwenden, solange man auf keinem andern einfacheren Wege zum Ziele kommt.

Zum Schlusse noch die kurze Bemerkung: die Grundleger der Mykologie (de Bary, Brefeld u. a.) sind bei der Herstellung ihrer Pilzkulturen immer nur von einer Zelle in einem hängenden Tropfen ausgegangen. Bekanntlich war ihre Methode, eine Masse Sporen und Conidien in einer sterilisierten Flüssigkeit zu verteilen, auf verschiedenen Deckgläsern dann eine Menge hängender Tropfen anzubringen und solange zu suchen, bis sie einen Tropfen fanden, in dem sich eine Spore oder Conidie befand. Die Kulturflüssigkeiten wurden ein wenig sauer genommen, um Bakterienentwicklung zu verhindern. Für morphologische Studien sind solche Kulturen sehr geeignet, aber als Ausgangspunkt für physiologische Untersuchungen nicht, denn für die Reinheit kann man durchaus nicht garantieren. Ihre Methode ist aber nicht brauchbar für kleinere Zellen, und durchaus nicht für Bakterien.

Beschreibung des Isolierapparates.

Figur 1 gibt eine schematische Darstellung des Instrumentes, das zur Isolierung dient. Die Zeichnung stellt einen 1 : 4 verkleinerten vertikalen Durchschnitt durch die Mitte des Apparates dar.

A ist eine eiserne Platte, die auf vier Füßchen steht. Das Mikroskop ist vermittels eines Bügels auf einer viereckigen kupfernen Platte *B* befestigt. Durch Drehung einer Schraube kann man das

Mikroskop mit *B* nach links und rechts bewegen, vermittels einer anderen Schraube vorwärts und rückwärts.

Von dem Mikroskop ist gezeichnet der Objekttisch *F*, der Beleuchtungsapparat von ABBE *G*, die Irisblende *H*, der Spiegel *I*, der Fuß *J* und ein Objektiv *K*. Auf dem Objekttisch befindet sich eine feuchte Kammer, die „Isolierkammer" *L*, die eine besondere Konstruktion hat. Ihre linke und rechte Seitenwand nämlich sind mit einem horizontalen Spalt versehen, der mit dickem Öl verschlossen werden kann. Durch diese sind zwei Glasnadeln *M* gestochen, deren Form unten beschrieben werden soll. Zwei Glasstücke, die sich oben an den Spalten befinden, können weggenommen werden, wenn man die Nadeln herausnehmen oder wieder an ihren Platz bringen will. Wenn man sie zu diesem Zwecke jedesmal wieder durch den Spalt stecken müßte, so würde man Gefahr laufen, die feinen Spitzen, auf die alles ankommt, abzubrechen.

Auf die feuchte Kammer, die vermittels eines beweglichen Objekttisches (ich gebrauche den von LEITZ, No. 99 aus Katalog No. 39) verschoben werden kann, bringt man das Deckglas, an dessen Unterseite die Isolierung vorgenommen werden soll.

Die Nadeln sind jede in einem Halter *N* befestigt, der sich auf einem Kupferstab *O* befindet, der um einen Punkt *P* drehbar ist. Am Ende des Stabes befindet sich ein rundes Stahlplättchen, vermittels dessen er auf einem vertikalen Stab *R* ruht. *R* kann vermittels des Triebes *S* auf und nieder geschraubt werden.

Es versteht sich von selbst, daß die Spitze von *M* in die feuchte Kammer nach unten geht, wenn *R* nach oben geschraubt wird, und umgekehrt. Die Schraube an *R* hat eine ziemlich feine Ganghöhe, und der Hebelarm *O* ist ungefähr doppelt so lang als der Abstand von *P* bis zur Spitze der Glasnadel. Man kann somit sehr geringe Veränderungen zustande bringen. Der Drehpunkt *P* wird durch eine Kupferstange *V* getragen, welche an den Säulen *T* befestigt ist.

Die Halter *N* kann man mit den Glasnadeln bequem von dem Instrumente nehmen, wenn die Glasstückchen, welche die Seitenspalten bedecken, weggenommen sind.

Da die Nadeln *M* in verschiedener Höhe in den Nadelhaltern *N* befestigt werden können, kann man bei dem Apparat auch verschiedene Mikroskope benutzen, z. B. ZEISS Stativ *Ia*, LEITZ Stativ *I*, *Ia*, *Ib* etc. Auf kleine Stative ist nicht gerechnet, weil diese bei der bakteriologischen Untersuchung im allgemeinen nicht wohl anwendbar sind.

Der Abstand zwischen den Stützpunkten *P* ist so weit genommen, daß Objekttische der größten Stative, und also selbstverständlich auch kleinere, dazwischen passen.

Mit Absicht ist an beiden Seiten zwischen *V* und dem Mikroskop ein großer Raum offen gelassen, durch welchen man die Hände stecken kann, falls das für eine Versetzung des Spiegels oder der Irisblende nötig wird.

Es war eine zeitraubende Arbeit, die brauchbarste Form für die Glasnadeln auszuprobieren und eine Methode für die Anfertigung zu finden. Viele technische Schwierigkeiten kreuzten hierbei den Weg.

Nach längeren Untersuchungen in dieser Richtung halte ich es für das beste, bei der Isolierung aller Organismen Glasnadeln zu gebrauchen, die an der Spitze zu einem Auge umgebogen sind.

Jede Nadel ist an dem Teil, welcher sich über dem Stab *O* befindet, 3 bis 4 mm dick; ungefähr über dem Drehpunkt *P* verjüngt sie sich zu ± $^1/_2$ mm Dicke. Das letzte Ende aber, aus welchem das Auge geformt ist, hat eine bestimmte Dicke, die im Verhältnis zu der Größe des Auges steht, das daraus geformt ist.

Für die kleinsten Mikroorganismen, z. B. stab-, kommaförmige und runde Bakterien, wird (Fig. 2) ein Auge (No. 2) verwandt mit einem äußeren Durchmesser von 9 μ und einer Drahtdicke von 2·5 μ. Für die größten Zellen, z. B. einzellige Algen, Schwärmsporen von Algen und Pilzen, große Sporen und Conidien, Saccharomyceten, Infusorien etc., wird ein Auge (No. 4) angewandt mit einem äußeren Durchmesser von 50 μ und einer Drahtdicke von 10 μ, für Mikroorganismen dazwischenliegender Größen ein Auge von 30 μ äußeren Durchmessers bei einer Drahtdicke von 5 μ (No. 3). Endlich wird noch bei der Isolation von Bakterien außer dem genannten kleinen Auge eine einfache spitz zulaufende Glasnadel gebraucht von 10 μ Dicke (No. 1).

Die Nadeln sind an dem Ende, welches in der Isolierkammer steckt, in einer Länge von ± 3 mm etwas nach oben umgebogen.

Die Befestigung der Isoliernadeln in dem Apparat geschieht auf folgende Weise.[1]

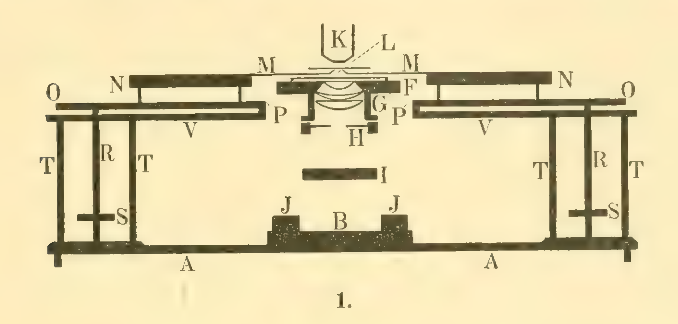
Man setzt das Mikroskop auf den Isolierapparat, und zwar in seinen mittleren Stand, d. h. so, daß es vermittels der Schiebvor-

---

[1]) Wer sich einen Isolierapparat anschafft, empfängt diesen mit Nadeln, die in den Nadelhaltern befestigt sind. Ich teile hier absichtlich mit, wie dies geschieht. Man kann also, falls eine bricht, eine neue besonders bestellen und selbst an dem Apparat befestigen.

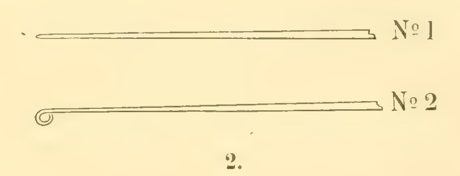
richtung ungefähr ebenso weit nach rechts als nach links, nach vorne als nach hinten verschoben werden kann. Ebenso ist die Isolierkammer mitten unter das Objektiv gestellt; die losen Stücke, welche die Seitenspalten bedecken, sind abgenommen.

Nun bringt man in die Nadelhalter *N* Glaserkitt und legt darauf die Nadeln so, daß die umgebogenen Enden nach oben weisen, sich



1.

beinahe mitten unter dem Objektiv berühren und sich etwas tiefer als der obere Rand der Isolierkammer befinden. Dann legt man die losen Stücke wieder auf die Seitenspalten und ein Deckglas auf die Isolierkammer. Nun drückt man die Nadeln so tief in den Glaserkitt, daß die Enden bei einem ungefähr horizontalen Stand durch Bewegung der Triebe *S* (Fig. 1) die Unterseite des Deck-



2.

glases berühren können, aber auch mindestens 2 mm nach unten bewegt werden können. Man muß diese Bewegungen nicht allein vornehmen können, wenn die Isolierkammer sich mitten unter dem Tubus des Mikroskops befindet, sondern auch, wenn sie so weit nach links oder rechts verschoben ist, wie dies für das Isolieren notwendig wird. Weiter dürfen die Enden, wenn sie das Deckglas berühren, nicht zu weit auseinander stehen, z. B. auf eine Distanzweite von 300 μ, und sich nicht genau gegenüber stehen. Im letzten Fall bestünde nämlich die Möglichkeit, daß sie bei einer gleichzeitigen

ober- und unterwärtsigen Bewegung ineinander greifen und brechen würden.

Zum Schluß noch ein Hauptfaktor, auf den geachtet werden muß. Das Auge muß solch einen Stand haben, daß es, wenn es gegen das Deckglas angebracht ist, mit seinem ganzen Umriß das Deckglas berührt. Man kontrolliert dies in einem hängenden Tropfen, den man auf das Deckglas der Isolierkammer angebracht hat, mit der stärksten Vergrößerung. Wenn man das Auge in trockenem Zustande gegen das Deckglas bringt, kann man sich unmöglich darüber Sicherheit verschaffen.

Befinden sich die Nadeln nun an der gewünschten Stelle, dann kann man, falls man vorsichtig zu Werke geht und sie nicht berührt, schon sofort mit der Isolierung beginnen. Wenn nach einiger Zeit der Glaserkitt hart geworden ist, ist selbstverständlich eine Verschiebung unmöglich.

Wir wir oben gesehen haben, braucht man beim Apparat 4 Nadeln und somit 4 Nadelhalter N. Man tut gut, diese zu numerieren; No. 1 und No. 4 werden rechts, No. 2 und No. 3 links im Apparat angebracht.

Daß die Nadeln mit großer Vorsicht behandelt werden müssen, ist selbstverständlich. Ein Andrücken gegen das Deckglas können sie aber, da sie sehr elastisch sind, gut vertragen.

Leider kann ich jetzt noch nicht den festgesetzten Preis des ganzen Apparates oder der besondern Nadeln mitteilen, und auch nicht die Verfertigungsweise der letzteren. Hoffentlich wird jedoch bald diese Lücke ausgefüllt werden. Eventuelle Anfragen werde ich indessen vorläufig gern entgegennehmen.

Mit diesem Apparat ist man also imstande, sehr feine Bewegungen unter dem Mikroskop auszuführen. Bis jetzt noch sind die Versuche allein auf das Isolieren von Mikroorganismen beschränkt. Ich bin aber überzeugt, daß man mit dieser Methode vielerlei andere Arbeiten wird verrichten oder doch bequemer machen können, z. B. das Sortieren von feinem Planktonmaterial, das Verfertigen von Dauerpräparaten solcher Mikroorganismen etc. Sind mir die schwierigsten Experimente (das Isolieren von Bakterien) geglückt, dann darf ich wohl erwarten, daß auch leichtere Versuche nicht mißglücken werden.[1]

---

[1]) Als ich meine Methode schon ganz ausgearbeitet und bereits viele Versuche mit ihr angestellt hatte, bemerkte ich aus den historischen An-

Das Isolieren.

Die Deckgläser, welche hierzu gebraucht werden, sind 18 × 18 mm groß. Peinliche Sauberkeit ist selbstverständlich. Am besten bringt man sie zunächst einige Zeit in die bekannte Mischung von Bichromatkalium und Schwefelsäure; wenn es nötig ist, kocht man sie in dieser Mischung oder in heißem Seifenwasser auf. Nach tüchtigem Abspülen werden sie in Alkohol aufbewahrt.

Will man nun isolieren, so beginnt man damit, einige Deckgläser mit einem feinen Leinentuch, welches man mit ganz wenig Vaseline versehen hat, einzureiben. Mit einem andern reinen Tuch reibt man die Vaseline wieder so weit ab, daß das Deckgläschen nur noch eben leicht beschlagen aussieht. Auch sorgt man für eine genügende Anzahl feuchter Kammern. Man verwendet hierzu nicht die gebräuchlichste Form, nämlich einen Ring auf einem Objektglas, sondern einen viereckigen Glasrahmen auf einem Objektglas. Die Seitenwände der Kammer sind 2 bis 3 mm hoch, 5 mm breit; der Innenraum ist 14 × 14 mm. Man kann diese Kammern bequem selbst anfertigen, wenn man den Glasrahmen aus 4 losen Stücken macht. Man reibt sie ebenso wie die Isolierkammer von innen ein mit Vaseline, welches die Stäubchen, die hereinfallen könnten, festhalten soll.

Ebenso werden sowohl die Seitenwände der feuchten Kammer als die Isolierkammer vorher an der Oberseite mit Vaseline versehen, die zur Abschließung mit den Deckgläschen notwendig ist.

---

merkungen, die Apáthy in seinem Buch: Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie Bd. I, Braunschweig (Bruhn) 1896 gibt, daß man schon in früheren Jahren allerlei Versuche gemacht hatte, um kleine Organismen (Diatomeen, kleine Crustaceen etc.) auf bequemere Weise unter dem Mikroskop bewegen und isolieren zu können. Übrigens hat keine dieser Methoden den Erwartungen entsprochen, weil ihr Gebrauch zu viele Beschwerden mit sich brachte und allein bei schwacher Vergrößerung anwendbar war. Als ein Kuriosum sei hier allein die beste dieser Einrichtungen genannt, die Hanks im Jahre 1877 konstruierte. Sie bestand aus einem Stück Bürstenhaar, dessen Spitze sich in der Mitte des Gesichtsfeldes befand. Durch horizontale Bewegungen des Objekttisches wurden die Objekte in horizontaler Richtung, durch Auf- und Abwärtsbewegen des Beleuchtungsapparates in vertikaler Richtung transponiert. Man konnte einen Organismus dadurch isolieren, daß man ihn an der feuchten Spitze des Haares anklebte und ihn, wenn das Haar trocken geworden war, auf einem Gläschen auffing.

Jetzt untersucht man erst, wie viel man von dem Material, woraus isoliert werden soll, in einen Tropfen einer $^3/_4$prozentigen Kochsalzlösung bringen muß, so daß nicht zu viel Zellen sich am Rand des Tropfens befinden. Es muß nämlich möglich sein, wie wir bald sehen werden, eine Zelle in einem ganz kleinen Tröpfchen aus dem großen Tropfen zu ziehen, ohne daß andere Zellen, wenigstens nicht in zu großer Zahl, mitgehen.

Man zieht darum ein mit Vaseline eingeriebenes Deckgläschen dreimal durch die Flamme. Hierauf legt man es auf die „Wechselkammer" (s. p. 32) so nieder, daß die Seite des Deckglases, die beim Ziehen durch die Flamme nach unten gekehrt war, sich auf der Unterseite befindet. Nun setzt man 4 Tropfen einer $^3/_4$prozentigen Kochsalzlösung auf das Deckglas, und bringt in jeden Tropfen mittels einer Platinnadel oder einer ganz feinen Platinöse verschiedene mit dem bloßen Auge kontrollierte Quantitäten des Materials (das man zu diesem Zweck in Bouillon oder auf einem festen Nährboden gezüchtet hat), und verteilt durch vorsichtiges Rühren die Zellen so gut wie möglich im Tropfen. Dann wird das Deckglas auf eine feuchte Kammer gelegt, auf deren Boden man, gegen die Vorder- oder gegen die Hinterseite (nicht in die Mitte, denn das könnte die Beobachtung hindern) ein Tröpfchen Wasser gelegt hat, und untersucht man, in welchem der 4 Tropfen das Material am besten verdünnt ist.

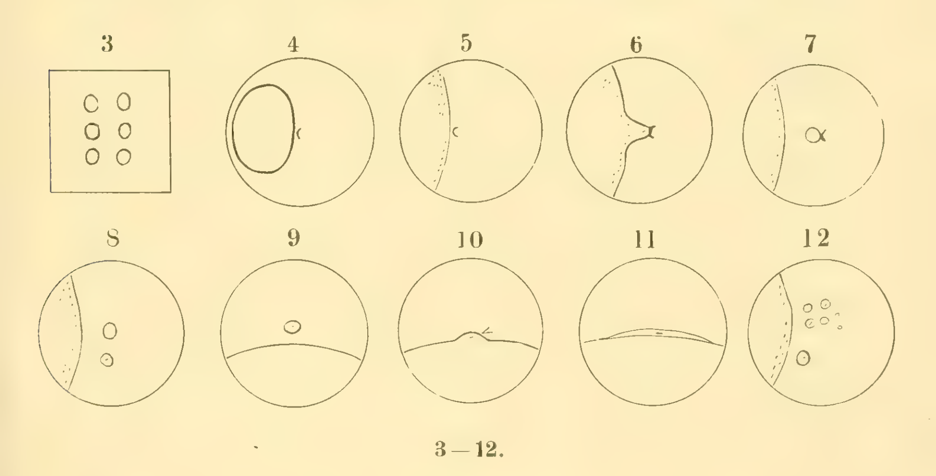
Hierauf wird das Gläschen, auf welchem man isolieren will, zugerichtet. Man zieht es auch dreimal durch die Flamme, und legt es auf die Wechselkammer wie das vorige. Nun sterilisiert man eine Platinöse und setzt untereinander, gleich nahe der Mitte des Deckglases, und zwar an der linken Seite, 3 Tröpfchen der sterilisierten Flüssigkeit, in der die Kultur entstehen soll. (Diese Tropfen nenne ich von jetzt ab einfach „Kulturtropfen".) Daneben, also rechts von der Mitte, setzt man auf $\pm$ 2 mm Abstand von jedem Tropfen, auch untereinander, 2 Tropfen einer $^3/_4$prozentigen Kochsalzlösung (weiterhin „Materialtropfen" genannt) und darunter einen Tropfen einer sterilisierten $^3/_4$prozentigen Kochsalzlösung (Fig. 3).[1]

Man bringt immer zuerst die Kulturtropfen auf das Gläschen und dann die Materialtropfen, weil so am wenigsten Gefahr ist, daß das Gläschen noch nicht genügend abgekühlt ist. Schließlich bringt man in die Materialtropfen eine genügende Quantität des Materials,

[1]) Der Diameter der Tröpfchen darf nicht größer sein als $\pm$ 1·5 mm.

und legt das Deckgläschen auf eine der zugerichteten feuchten Kammern, zur Verhütung einer Infektion, und zugleich um es an den Rändern mit Vaseline zu versehen.

Nun legt man auf den Boden der Isolierkammer gegen die Vorder- oder gegen die Hinterseite (nicht in die Mitte!) ein Tröpfchen Wasser und geht dann zum Sterilisieren der Nadeln über. Für Bakterien gebraucht man links die Isoliernadel mit dem kleinsten Auge (No. 2), rechts die spitz zulaufende gerade Nadel (No. 1). Um diese zu sterilisieren, nimmt man die losen Seitenstücke, die die Spalten bedecken, von der Isolierkammer ab. Indem man nun die Schrauben, womit die Stäbe N in O befestigt sind, losdreht, holt



3—12.

man N vorsichtig aus dem Apparat und hält die Spitzen der Glasnadeln zunächst in ein Fläschchen mit starker Schwefelsäure und dann etwas tiefer in ein Fläschchen mit Ammoniak. Man taucht die Spitze immer etwas tiefer in das Ammoniak als in die Schwefelsäure, da es sonst möglich ist, daß ein Teil der Schwefelsäure nicht genügend neutralisiert wird und dann nachher zu der Spitze der Nadel hin diffundiert. Dadurch könnte die zu isolierende Zelle beschädigt werden, was mir im Beginn meiner Versuche, als ich auf diese Einzelheit nicht achtete, oft vorkam. Dann bringt man die Nadeln wieder auf ihren Platz und legt die losen Seitenstücke auf die Spalten. Bevor man diese schließt, legt man das Deckgläschen, auf dem isoliert werden soll („Isolierdeckgläschen“), schon wieder auf die Isolierkammer (wobei man wohl darauf zu achten hat, daß nicht eine der Nadeln einen

Materialtropfen berührt). Je eher nämlich die Nadeln vor Luftinfektion (s. p. 36) geschützt werden, desto besser. Das Schließen selbst geschieht mit Olivenöl, welches durch Diapalm so dickflüssig gemacht ist, daß es nach z. B. zwei Tagen noch nicht aus den Spalten herausgeflossen sein darf. Es wird vor dem Gebrauch umgerührt; man läßt es von einem platten Spatel in den Spalt fließen.

Nun geht man zum eigentlichen Isolieren über. Man wartet noch eben, bis das Deckglas ganz beschlagen ist mit kleinen abgerundeten Tröpfchen.[1] In der Figur 4 (u. ff.) sind diese Kondensierungströpfchen deutlichkeitshalber weggelassen. Ist man so weit, und ist also die Isolierkammer mit Wasserdampf gesättigt, dann taucht man die Spitzen der Nadeln bei schwacher Vergrößerung einige Male in den Tropfen steriler $^3/_4$prozentiger NaCl-Lösung. Das geschieht um sie von Ammoniaksulfat zu befreien, obgleich ich nicht glaube, daß dies schädlich auf die zu isolierende Zelle einwirken kann,[2] und um das Auge der linken Nadel mit NaCl-Lösung zu füllen. Hierauf stellt man vermittels der Schiebebewegung von *B* (Fig. 1) das Mikroskop so, daß das Auge der linken Nadel, während es das Deckglas beinahe berührt, bei stärkster Vergrößerung genau in die Mitte des Gesichtsfeldes kommt. Die rechte Nadel wird um drei Schraubgänge nach unten gedreht. Hierauf stellt man vermittels der beweglichen Objekttafel bei schwacher Vergrößerung die Isolierkammer so, daß das Auge beinahe den Rand eines Materialtropfens berührt, und zwar den Rand, der dem gegenüberliegenden Kulturtropfen zugekehrt ist (Fig. 4). Natürlich muß man dafür sorgen, daß bei diesen Verschiebungen die linke Nadel nicht mit einem der Tropfen in Berührung kommt. Bei der rechten Nadel ist das un-

[1]) Daß die größeren Material- und Kulturtropfen und die kleinen Kondensierungstropfen alle abgerundet sind, ist eine Folge von dem Gebrauch der Vaseline. Auf gewöhnlichen Deckgläsern würden alle diese Tropfen unregelmäßige Konturen haben und mehr oder weniger ausfließen und untereinander zusammenfließen, wodurch das ganze Isolationsverfahren unmöglich sein würde. Indessen darf nur sehr wenig Vaseline auf dem Deckglas nach dem Ausreiben zurückbleiben, da sonst beim Schieben des Auges gegen das Deckglas die überflüssige Vaseline leicht in Form kleiner Stäbchen in die isolierten Tropfen hineingelangt, was zu Verwechslung mit Bakterien Anlaß geben könnte.

[2]) Nach Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère, sind nicht weniger als 250 g Ammonium sulf. nötig, um auf 1 l Bouillon entwicklungshemmend einzuwirken; er rechnet es demnach unter die sehr schwach antiseptischen Körper.

möglich, weil sie ganz nach unten gedreht ist. Nun gebraucht man die stärkste Vergrößerung; um alles an den richtigen Platz (Fig. 5) im Gesichtsfeld zu bekommen, wird bisweilen noch eine kleine Verschiebung des Mikroskops oder der Nadel, die man, weil sie das Deckglas nicht berührt, nur so eben sieht, notwendig sein. Man sucht nun am Rand des Tropfens entlang, bis man eine Bakterie, die man isolieren will, sieht. Wir nehmen an, daß wir diese in einem Teile des Tropfenrandes finden, wo sich nicht viel andere Bakterien aufhalten. Können wir solch einen Teil nicht in dem einen Materialtropfen finden, so suchen wir in dem anderen. Dann bringt man das äußerste Ende des Auges der Nadel (in Fig. 4 bis 7 durch eine kleine halbkreisförmige Linie wiedergegeben) gegen das Deckglas und berührt damit eben den Tropfenrand. Dadurch wird ein wenig Flüssigkeit aus dem Tropfen gezogen (Fig. 6). Sieht man, daß die betreffende Bakterie mitgegangen ist, dann verschiebt man die Isolierkammer ein wenig, wodurch ein kleines Tröpfchen mit der Bakterie darin sich vom großen Tropfen loslöst (Fig. 7). Hierzu sind sehr kleine Bewegungen notwendig; man kann diese noch besser als durch Verschiebung der Isolierkammer bekommen, wenn man seitlich gegen die Mikrometerschraube des Mikroskops drückt.

Nun bewegt man die linke Nadel ein wenig nach unten und untersucht, ob man die eine Bakterie, und nicht mehr als sie, in dem Tröpfchen liegen sieht. Ist das so, dann bringt man das Auge der linken Nadel eben gegen das Deckglas auf einen Platz dicht bei dem Tröpfchen mit der isolierten Bakterie. Dadurch soll das Auge einen Teil seines Inhalts auf das Deckglas absetzen (Fig. 8), und folglich weniger Flüssigkeit enthalten (sei es auch nur eine Zeitlang, denn allgemach zieht es wieder Wasserdampf an sich, mit dem die Isolierkammer gesättigt ist). Wenn man dann das Auge wieder in den Tropfen mit der isolierten Bakterie bringt, und darauf wieder nach unten bewegt, wird die Bakterie meistens aus dem Tröpfchen verschwunden und in das Auge übergegangen sein. Scheint das noch nicht geschehen zu sein, dann muß die beschriebene Bewegung wiederholt werden.

Diese Bakterie muß nun in eines der Kulturtröpfchen gebracht werden. Zu diesem Zweck nimmt man statt der starken Vergrößerung die schwache und verschiebt die Isolierkammer so weit nach rechts, daß das Auge der linken Nadel, wenn diese nach oben bewegt wird, zwischen zwei Kulturtröpfchen, und zwar ganz nahe am Rand des

einen der beiden, ankommt. Man versucht dies dadurch, daß man das Auge bis dicht an das Deckglas bringt. Erst wenn man die schwache Vergrößerung wieder mit der starken gewechselt hat, bringt man das Auge gegen das Deckglas. Dieses setzt dadurch ein Tröpfchen ab (Fig. 9), in dem sich wahrscheinlich die isolierte Bakterie befindet. Ist das nicht der Fall, dann setzt man mit dem Auge neben das erste Tröpfchen ein zweites, und wenn notwendig, mehrere, bis man in einem derselben die bewußte Bakterie liegen sieht.

Auf dieselbe Weise isoliert man zwei andere Bakterien, die man ebenso jede neben ihrem Kulturtropfen deponiert.

Nun bringt man die isolierten Bakterien in die Kulturtropfen. Dies geschieht nicht vermittels der augförmigen linken Nadel, welche man bisher gebraucht hat, sondern mit der spitzen rechten Nadel. Man dreht bei schwacher Vergrößerung die linke Nadel um drei Schraubgänge[1] nach unten, die rechte Nadel in die Höhe, und bringt diese, vermittels der Schiebevorrichtung *B* genau unter eines der Tröpfchen, worin sich eine isolierte Bakterie befindet. Jetzt vertauscht man die schwache Vergrößerung mit der stärksten, und bringt die Spitze der rechten Nadel bis zur Berührung des Deckglases in das Tröpfchen. Dann verschiebt man die Isolierkammer, oder besser noch man drückt gegen die Mikrometerschraube des Mikroskops, so daß die Spitze der Nadel das Tröpfchen mit der Bakterie in den Kulturtropfen zieht. Während dies geschieht, muß man die Bakterie gut im Auge behalten. Das ist möglich, weil die rechte Nadel in eine Spitze ausläuft, die die Bakterie nicht so leicht dem Auge entzieht als ein augförmig umgebogenes Ende, das mehr Platz einnimmt. Im Moment des Zusammenfließens (Fig. 10) der beiden Tropfen ist man also sicher, daß die isolierte Bakterie wirklich in den Kulturtropfen gelangt ist. Meistens kann man sie darin liegen sehen. Macht man von einem festen Kulturtropfen, z. B. Gelatine, Gebrauch, dann sieht man das Tröpfchen mit der Bakterie an der Gelatine liegen (Fig. 11).

Auf dieselbe Weise werden die anderen isolierten Bakterien in ihre Kulturtropfen gebracht.

Wir haben oben die Annahme gemacht, daß die isolierte Bakterie bei ihrer Entfernung aus dem Materialtropfen sich in einem Teil des

[1]) Drei Schraubgänge genügen, um zu verhindern, daß die Spitze der Nadel während der Verschiebungen der Isolierkammer die Unterseiten der Tropfen berühren kann.

Tropfenrandes befand, wo nicht viel andere Bakterien sich aufhielten. Allein in diesem Falle darf man auf die beschriebene Weise zu Werke gehen, und also, sobald man gesehen hat, daß man eine Bakterie aus dem Materialtropfen geholt hat, diese sofort in dem Auge der linken Nadel auffangen und in nächster Nähe des Kulturtropfens deponieren.

Vorausgesetzt nun aber, daß die Bakterie sich in ihrem Materialtropfen in einem Teil befand, wo auch viele andere Bakterien in nächster Nähe waren (hierfür besteht z. B. große Möglichkeit, wenn die ursprüngliche Flüssigkeit nicht gut verdünnt ist), dann ist es sehr leicht möglich, daß sich in dem isolierten Tröpfchen zwar nur eine Bakterie befindet, aber daß im Auge der Nadel auch eine oder gar mehrere Bakterien vorkommen. In diesem Falle kann es daher auch passieren, daß in dem Tröpfchen, welches man neben dem Kulturtropfen absetzt, nicht eine, sondern mehrere Bakterien sich befinden. Nun könnte man meinen, daß das so schlimm nicht sei, da man dann ja einfach das Tröpfchen mit den Bakterien neben dem Kulturtropfen liegen lassen kann, um darauf eine andere Bakterie zu isolieren. Man tut aber gut, im Auge zu behalten, daß ein Tropfen auf dem Deckglas oft im Verlauf der folgenden Stunden ein wenig auseinander fließt, so daß die verschiedenen Bakterien dann in den Kulturtropfen gelangen würden. Es ist darum besser, in solch einem Fall vorsichtiger zu arbeiten. Wenn mit der linken Nadel eine Bakterie aus dem Materialtropfen isoliert ist, und man Grund hat zu vermuten, daß in dem Auge der Nadel noch andere Bakterien sitzen, so bringt man einfach in der Nähe des isolierten Tropfens das Auge so oft gegen das Deckglas, bis alle Flüssigkeit mit den eventuell darin befindlichen Bakterien auf dem Deckglas abgesetzt ist (Fig. 12). Darauf bringt man mit schwacher Vergrößerung das Auge in den Tropfen $^3/_4$ prozentiger Kochsalzlösung, um es noch einmal abzuspülen und sogleich wieder mit Flüssigkeit zu füllen, und dann erst bringt man die isolierte Bakterie auf die oben beschriebene Weise in ihren Kulturtropfen.

Es ist wohl unnötig zu sagen, daß jeder, der mit dieser Methode arbeitet, von selbst allerlei kleine Einzelheiten durch die Praxis lernt. Hat man z. B. mit einem Tropfen zu tun, in dem sich am Rand entlang entweder durch ungenügende Verdünnung oder durch zufällige Umstände so viel Bakterien befinden, daß es beinahe unmöglich ist eine zu isolieren, und hat man dann weiter aus dem Materialtropfen ein Tröpfchen isoliert, worin sich nicht eine, sondern zwei oder mehr

Bakterien befinden, von denen eine die gesuchte ist, dann kann man das Auge der linken Nadel erst in dem Tropfen $^3/_4$ prozentiger Kochsalzlösung abspülen und es dann, nachdem man es auf die bekannte Weise von ein wenig Flüssigkeit entlastet hat, in das Tröpfchen mit jenen Bakterien bringen. Dadurch werden einzelne Bakterien in die Flüssigkeit des Auges übergehen und vielleicht bleibt gerade die eine gesuchte zurück; ist das nicht der Fall, dann kann man die Flüssigkeit aus dem Auge in Tropfen auf das Deckglas absetzen, und dabei geschieht es leicht, daß sich die Bakterien scheiden, indem sie in verschiedene Tröpfchen gelangen. Sobald man die gewünschte Bakterie in einem Tropfen abgesondert liegen sieht, spült man das Auge in dem Kochsalztropfen ab, und transportiert die Bakterie.

Dergleichen besondere Fälle könnte man natürlich noch mehr beschreiben; wir wollen es aber hierbei bewenden lassen, weil die Praxis in dieser Beziehung die beste Lehrmeisterin ist.

Durch einige Übung bringt man es recht bald so weit, daß, wenn das Material ungefähr die richtige Verdünnung hat (ist das nicht der Fall, dann kann man wohl auch isolieren, aber nicht so bequem), man in ungefähr 5 Minuten eine Bakterie aus dem Materialtropfen isoliert und in den Kulturtropfen bringt.

Es ist natürlich nicht nötig, die Nadeln nach dem Isolieren jeder Zelle aufs neue zu sterilisieren; das muß allein geschehen, wenn man sie einige Zeitlang nicht gebraucht hat, und ebenso wenn man beim Isolieren einen Fehler gemacht hat, der es als wahrscheinlich erscheinen läßt, daß sie durch Bakterien verunreinigt sind (z. B. wenn die rechte Nadel, auf die schließlich alles ankommt, durch Unglück in den Materialtropfen gekommen ist).

Sind drei Bakterien transponiert, dann läßt man, wenn man noch mehrere isolieren will, das Deckglas noch auf der Isolierkammer liegen, bis man ein zweites Deckgläschen in Bereitschaft gestellt hat.

Wenn man ein Deckgläschen von der Isolierkammer wegnimmt, tut man gut, mit Vorsicht zu Werke zu gehen. Hebt man es zu schnell auf, dann wird das Öl, das die Seitenspalten abschließt, in die Isolierkammer gesogen und die Unterseite des Deckglases verunreinigt. Man steckt darum eine platte, feinspitzige Pinzette zwischen das Deckglas und die Wand der Kammer und macht erst eine Öffnung in die Vaseline, die zur Abschließung dient. Erst darauf hebt man das Deckglas vorsichtig auf.

Jedes Deckglas, auf dem man isoliert hat, wird auf eine feuchte Kammer gelegt. Man kann, um Verdunstung der Kulturtropfen zu verhüten, auf den Boden einen kleinen Wassertropfen bringen, aber immer gegen die Wand, welche sich bei den Materialtropfen befindet. Der Wasserdampf, welcher sich aus diesem Tröpfchen, besonders in einem Brutschranke, entwickelt, wird nämlich meistens im stärksten Maße kondensiert auf dem Teil des Deckglases, welcher sich darüber befindet, hier also zwischen den Materialtropfen. Geschähe das zwischen den Kulturtropfen, dann könnten diese zerfließen und die Kultur also mißglücken.

Da ich indessen während meiner Versuche bemerkte, daß hängende Tropfen, sei es von Bouillon, Nährgelatine oder anderen Flüssigkeiten, nach einiger Zeit mehr oder weniger sauer werden (eine Tatsache, die, soweit ich weiß, noch nicht beobachtet ist, und worüber ich bald eine Mitteilung veröffentlichen will), ist es weit besser, auf den Boden der feuchten Kammer ein kleines Stückchen Filtrierpapier (etwa 3×8 mm groß), getränkt mit einer 2prozentigen KOH-Lösung, zu legen. Dadurch wird das Sauerwerden, das meistens eine entwicklungshemmende oder gar tödliche Wirkung auf die isolierten Bakterien hat, verhütet. Ein Tropfen KOH-Lösung leistet keine Dienste, da er zwischen dem Boden und den Seitenwänden der feuchten Kammer zerfließt. Nach dem Gebrauch werden die Kammern gut gereinigt und vom überschüssigen KOH befreit, da sonst bei fortwährendem Gebrauch die Konzentration zu hoch werden würde, und ein Austrocknen der hängenden Tropfen zu fürchten wäre.

Die benutzten feuchten Kammern werden in eine gehörige Temperatur gebracht. Wenn diese Temperatur höher ist als 25° C., muß das Deckgläschen, das schon vermittelst Vaseline auf der feuchten Kammer befestigt ist, außerdem noch an zwei Seiten mit Paraffin bestrichen werden, was man am bequemsten so macht, daß man sie aus einem gläsernen Tropfgläschen ausfließen läßt. Beim Gebrauch von Vaseline allein gleitet das Gläschen, wenn dieses flüssig wird, ganz von seinem Platz. Wenn als Kulturtropfen ein fester Boden angewandt wurde, kann die Entwicklung der Kolonie mit starker Vergrößerung beobachtet werden, weil dieselbe sich am Rande vollzieht.

Untersuchen wir nun die Isolierung größerer Organismen.

Ehe man mit der Isolierung beginnt, mißt man die Größe der Zellen, um zu bestimmen, mit welcher Nadel isoliert werden muß.

Haben die Zellen eine solche Größe, daß sie am besten mit Nadel No. 3 transportiert werden, dann setzt man alle Tropfen auf das Deckglas, wie es oben für Bakterien beschrieben worden ist. Werden aber die Zellen am besten mit Nadel No. 4 transportiert, dann setzt man, da diese Nadel rechts im Apparat angebracht ist, die Kulturtropfen an die rechte, die anderen Tropfen an die linke Seite, so daß die Zellen mit No. 4 isoliert und transportiert, mit No. 3 in die Kulturtropfen geschoben werden.

Wir wollen die Isolierung einer großen Zelle nun nicht mehr ausführlich beschreiben. Die Methode ist in der Hauptsache dieselbe wie die, welche wir oben in extenso für Bakterien mitgeteilt haben; die Änderungen lernt jeder selbständig bei der Ausführung. Auf einige bedeutungsvolle Sachen wollen wir aber noch weisen.

Zunächst auf den besonderen Nutzen des sterilen Kochsalztropfens. Dieser kann uns hier einen besonderen Dienst erweisen, wenn die ursprüngliche Flüssigkeit nicht genügend verdünnt ist, oder wenn an der zu isolierenden Zelle (Hefezelle, Schimmelspore etc.) eine Bakterie fest zu sitzen scheint. In solchen Fällen kann man den Inhalt des Auges der Nadel, in dem sich die zu isolierende Zelle befindet, gleichsam darin abspülen, wobei die festsitzende Bakterie vielleicht abgelöst wird, und die überflüssigen Bakterien zurückbleiben.

Auch machen wir darauf aufmerksam, daß bei der Isolierung großer Zellen im allgemeinen mit anderen Vergrößerungen gearbeitet wird, als bei der Isolierung von Bakterien. Es ist z. B. anzuraten, die Arbeiten, die wir in Figur 5 bis 7 dargestellt haben, besonders wenn die zu isolierenden Zellen sehr groß sind, und also die Nadel mit dem größten Auge angewandt wird, nicht mit einer Immersionslinse, sondern mit einem mehr oder weniger starken Trockensystem zu verrichten, z. B. Leitz 6 bis 8, Zeiss *E* oder *F*. Man kann selbst noch schwächere Vergrößerungen gebrauchen, wenn man sicher ist, daß der Materialtropfen von Bakterien nicht, oder doch sehr wenig, verunreinigt ist, und man also sehr wenig Möglichkeit hat, außer der zu isolierenden Zelle noch andere Zellen, z. B. Bakterien aus dem Tropfen herauszuziehen. Das Immersionssystem gebraucht man hier nur, um zu kontrollieren, ob man nicht mehr als die eine gewünschte Zelle isoliert hat, und es ist wohl ratsam, bei dieser Kontrolle die isolierte Zelle in dem Tröpfchen gut hin und her zu bewegen, so daß sie von allen Seiten gut beobachtet werden kann. Schimmelsporen und Conidien deponiert man immer

bei schwacher Vergrößerung in die Mitte des Kulturtropfens: bei dem Keimen kann das Mycelium sich dann nach allen Seiten ausbreiten, ohne aus dem Tropfen herauszutreten, was natürlich geschehen würde, wenn die keimende Zelle am Rande läge.

Jetzt eine Bemerkung, die sowohl für die Isolierung größerer Zellen als auch Bakterien gilt. Man kann die zu isolierende Zelle noch auf eine andere, als in Figur 5 und 6 beschriebene Weise aus dem Materialtropfen herausbringen, wenigstens in einzelnen Fällen. Wenn man ein gut verdünntes Bakteriemnaterial hat, kann man auch eine Bakterie isolieren, welche etwas vom Rande des Tropfens entfernt liegt, indem man nämlich das Auge nicht an den Rand, sondern sofort in den Tropfen an den Platz der bewußten Bakterie bringt. In vielen Fällen wird es glücken, diese dann aufzufangen.

Das geht jedoch nicht bei einer Bakterie, die sich weit vom Rand entfernt befindet, also in einem dickeren Teil des Tropfens, denn in solchem Fall ist die Möglichkeit zu groß, andere Bakterien in das Auge der Nadel zu bekommen, die sich in tieferen Schichten des Tropfens befinden und die man nicht mit dem Immersionssystem sehen kann. Sehr gut geht aber dieses Auffangen, selbst mitten aus dem Tropfen, bei großen Zellen mit schwacher Vergrößerung. In diesem Falle darf die Flüssigkeit nicht zu stark mit Bakterien verunreinigt sein.

Nicht geringe Schwierigkeit bereiten Zellen, die sich an dem Deckglas mehr oder weniger festkleben, was ja Bakterien (wahrscheinlich vermittels ihrer Cilien) wohl gelegentlich tun. Man kann sie oft nicht aus dem Tropfen herausbringen.

Am bequemsten sind die Bakterien zu isolieren, welche in Bewegung sind, was man a priori gewiß nicht erwarten würde. Man sucht einfach einen Platz am Rand des Tropfens auf, wo die Bakterie nach ihrer Bewegung vermutlich entlang kommt, um in dem Moment die Bewegung zu vollziehen, die in Figur 6 gezeichnet ist. Fast immer wird es glücken, die Bakterie in dem gelegten „Hinterhalt" zu packen.

Sehr bequem sind auch Bakteriensporen zu isolieren, wenigstens wenn man einen einfachen Kunstgriff anwendet, der darin besteht, daß man das Ende der Nadel mit einer sehr dünnen Paraffinschicht überzieht, und zwar dadurch, daß man es in eine 10prozentige Lösung von Paraffin in Petroleumäther taucht. Dann bleiben die Bakteriensporen außerordentlich gut an der Nadel haften; man kann sie sogar mit der punktförmigen Nadel No. 1 isolieren. Die Er-

klärung dieser Tatsache ist natürlich in einer besonderen Adhäsion zwischen der Paraffin und der Sporenwand, die eine besondere chemische Struktur hat, zu suchen. —

Wir haben gesehen, daß das Material, woraus isoliert wurde, immer in physiologischer Kochsalzlösung verteilt war. Aus zwei Ursachen habe ich diese Flüssigkeit gewählt: zunächst wegen seiner geringen Viskosität. Aus Figur 6 und 7 ist es ersichtlich, daß die kleine Flüssigkeitsmenge mit der isolierten Zelle, wenn sie aus den größeren Materialtropfen gezogen ist, sich als ein selbständiges Tröpfchen loslöst. Das würde nicht möglich sein, wenn man es mit einer viskosen Flüssigkeit zu tun hätte.[1] Zweitens liegt ein großer Vorteil darin, daß Tröpfchen einer Kochsalzlösung nicht verdampfen; man kann diese, mit den darin sich befindenden Bakterien, z. B. 24 Stunden auf der Isolationskammer lassen, und dann haben sie noch dieselbe Größe. Tröpfchen einer anderen Flüssigkeit werden während der Beobachtung kleiner, um nach sehr kurzer Zeit beinahe ganz zu verschwinden. Eine vollkommene Erklärung dieses Phänomens wage ich noch nicht zu geben; sicherlich spielen hier aber, wie zahlreiche Versuche mir lehrten, die wasseranziehende Kraft des Kochsalzes und die Temperatur des Apparates selbst und der Umgebung eine Hauptrolle.

Man isoliere, wenn möglich, aus frisch hergestelltem Material, z. B. aus Kulturen, welche nicht älter sind als 24 Stunden, insbesondere wenn man es mit Bakterien zu tun hat. Es ist mir nämlich wahrscheinlich, daß oft ein ziemlich großer Prozentsatz der Bakterien in einer Kultur tot oder beinahe tot, jedenfalls nicht mehr entwicklungsfähig ist. Das kann jedoch nicht von allen Bakterien gesagt werden; ich habe gearbeitet mit Arten (z. B. die Fäcesbakterien von Kohlbrugge, worüber später gehandelt werden soll), wobei alle isolierten Bakterien sofort Kolonien gaben, und mit andern Arten, bei denen die Isolation einer ziemlich großen Anzahl Zellen kein Resultat ergab. Bei Hefezellen und selbstverständlich auch bei Pilzsporen tritt diese Schwierigkeit nicht zutage.

Man untersuche immer, ehe man mit dem eigentlichen Isolieren

[1]) Es kann aber auch vorkommen, daß gewisse Flüssigkeiten zu wenig viskos sind, so daß sie sich über die Unterseite des Deckglases ausbreiten. Das ist z. B. der Fall mit gewöhnlichem Serum. Wenn man davon Kulturtropfen nimmt, findet man diese nach einiger Zeit untereinander zerflossen. Man verdünnt es daher mit Wasser oder mischt es mit ein wenig Gelatine.

anfängt, in welcher Nährflüssigkeit der Organismus, der isoliert werden soll, am besten wächst. Zu diesem Zweck richtet man mehrere Deckgläschen, jedes mit einem Materialtropfen und mit z. B. 5 Kulturtropfen verschiedener Nährlösungen, und bringt in dem Isolierapparat, vermittels einer der augförmigen Nadeln, bei schwacher Vergrößerung, ein ganzes Auge, gefüllt mit Zellen, in jeden Kulturtropfen. Die Deckgläschen werden dann auf gewöhnliche feuchte Kammern gelegt, wenn nötig in den Brutschrank gestellt, und am folgenden Tage kontrolliert. Diese vorläufigen Versuche sind bequem auszuführen, und kosten nicht viel Zeit. Beginnt man aber sofort mit dem Isolieren, dann tut man oft viel Arbeit umsonst.

Die Gründe für den Gebrauch zweier Nadeln sind folgende.

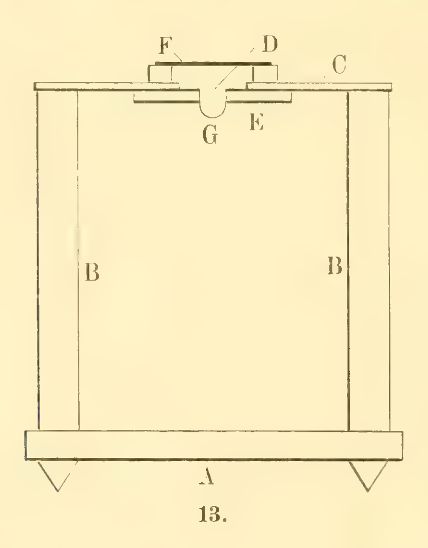
Irgendwelche Umstände könnten Veranlassung sein, daß sich in dem Auge der Nadel, mit der eine Zelle isoliert wurde, noch eine Bakterie festsetzte, obgleich es sehr selten vorkommt, wenn man mit reinen, gut sterilisierten Nadeln arbeitet, wenn das Material genügend verdünnt ist, und man nur dafür sorgt, daß die Nadel niemals zu tief im Materialtropfen steckt. Dann könnte die Bakterie wohl einmal mit der isolierten Zelle zusammen in dem Kulturtropfen landen, und es würde keine Reinkultur entstehen. Wenn man eine große Zelle, z. B. von Hefe, isolierte, würde man den Fehler später wohl bemerken, aber bei Bakterien könnte große Verwirrung entstehen.

Darum haben wir lieber mit zwei Nadeln arbeiten wollen. Hat man wirklich beobachtet, daß man nur eine Zelle isoliert hat und neben dem Kulturtropfen deponiert, dann wird diese weiter in den Kulturtropfen mit der zweiten Nadel transponiert, über deren vollkommene Reinheit man sicher sein kann.

Wenn man nach einiger Zeit sieht, daß die isolierte Zelle sich in dem Kulturtropfen vermehrt hat, muß in ein gewöhnliches Röhrchen übergeimpft werden. Hat man einen festen Kulturtropfen gebraucht, so wartet man, bis die Kolonie mit bloßem Auge sichtbar ist. Für die Übertragung kann man von einem einfachen kleinen Apparat, der „Wechselkammer", Gebrauch machen, die schematisch und im Durchschnitt in Figur 13 abgebildet ist.

Auf einem Fuß A, der mit Blei beschwert ist, stehen zwei Säulchen B, von 10 cm Höhe. Auf diesen ist ein Objektglas C mit einer feuchten Kammer vermittels Siegellack befestigt. In der Mitte ist eine Öffnung D, deren Durchmesser 15 mm beträgt. Die Öff-

nung kann durch ein Glasplättchen E, das ganz mit Vaseline bestrichen ist, abgeschlossen werden, wenn man es darunter schiebt. Dieses Plättchen hat in der Mitte eine Öffnung, worunter ein hohler kupferner Knopf G befestigt ist. In diesen Knopf bringt man einen Tropfen Wasser, so daß nach Abschließung der Kammer von unten der Raum mit Wasserdampf gesättigt ist. Auf die feuchte Kammer, welche ebenfalls von innen mit Vaseline bestrichen ist, um von Infektion durch Stoffteilchen nicht belästigt zu werden, legt man das Deckglas F, auf dem isoliert ist. Man kann nun sehr bequem, wenn man E weggeschoben hat, von unten, durch die Öffnung hin,



13.

mit einer Platinnadel aus dem Kulturtropfen in ein Röhrchen überimpfen. Dieser kleine Apparat hat den Vorteil, daß das Deckgläschen vollkommen festsitzt, daß Infektion von außen während dieser Manipulation beseitigt wird, und daß das Verdampfen der Tropfen auf dem Deckgläschen mehr verhindert wird, was nicht der Fall ist, wenn man es einfach in eine Deckglaspinzette klemmt.

Der Apparat findet auch, wie wir oben sahen, bei der Verdünnung des Materials und der Herstellung der Isolierdeckgläschen Verwendung.

Sollte es vielleicht für einige Mikroorganismen aus dem einen oder andern Grunde erwünscht sein, daß sie nach der Isolation sich nicht in einer feuchten Kammer, sondern direkt in einem Röhrchen oder

Kolben weiter entwickeln, so kann man folgendermaßen zu Werke gehen. Man isoliert in einem flüssigen Kulturtropfen und bringt sofort das Gläschen auf die Wechselkammer. In einem sterilisierten Kapillarglasröhrchen (± 1 cm lang, Lumenweite ± $^1/_2$ mm), oder in einem sterilisierten Stückchen Filtrierpapier (± 3 × 6 mm), von dem man immer Vorrat haben muß, wird dann vermittels einer sterilisierten Pinzette der Kulturtropfen aufgesogen und sofort in das Röhrchen oder den Kolben gebracht.

Anwendungen.

Natürlich bestanden die ersten Anwendungen darin, daß ich Reinkulturen von allerlei Mikroorganismen züchtete, auch von solchen, bei denen das Isolieren nach der Kochschen Methode mit mehr oder weniger Schwierigkeiten verbunden ist. Von den letzteren nenne ich die Saprolegniaceen, die, wie bekannt, meistens in Wasser vorkommen, welches von Bakterien wimmelt, was zur Folge hat, daß Kulturplatten oft so stark durch überwuchernde Bakterien verunreinigt sind, daß ein Isolieren des langsam wachsenden Pilzes unmöglich gemacht wird. Es kostete jedoch nicht viel Mühe, um nach der beschriebenen Methode aus sporenhaltigem Material (besonders wenn die Sporen noch nicht lange aus dem Sporangium herausgetreten waren) eine Spore zu isolieren, die nicht mit Bakterien verunreinigt war, und daraus eine Reinkultur zu züchten.

Zwei Anwendungen möchte ich noch ausführlich beschreiben, und zwar weil dabei meine Methode in der Tat die einzige war, die zu einem Resultate führte. Beide betreffen die Frage der Pleomorphie.

Eine Auseinandersetzung von dem, was über diese belangreiche Frage geschrieben ist, und eine Aufzählung der verschiedenen Beobachtungen, die damit zusammenhängen, würde Stoff genug geben für ein ganzes Buch. Ich will mich darum in diesem engen Rahmen einer ausführlichen Besprechung dieser Frage enthalten, und nur zu zeigen versuchen, daß für ein abschließendes Studium dieses Problems, die bisher gebrauchten technischen Hilfsmittel unzureichend sind, und eine Methode wie die oben beschriebene unbedingt notwendig ist. Dabei ist die Benennung „Pleomorphie“ als ein Kollektivbegriff aufzufassen, unter den alle beobachteten Variationen von Bakterien fallen.

Bei den Untersuchungen von Nägeli, Zopf u. a., welche die gewaltigsten Übergänge zwischen allen möglichen Formen wahrnahmen, brauchen wir nicht stehen zu bleiben, da sie nicht mit Reinkulturen angestellt und also in gewissem Sinne wertlos sind. Ganz richtig sagt darum Migula [1], mit Bezug auf die Versuche von Zopf, wo er über Arten spricht, die in Reinkulturen gezüchtet sind: „Eine so weitgehende Vielgestaltigkeit ist niemals beobachtet worden."

Aber zwischen Pleomorphie in diesem Sinn und einem absoluten Konstantsein der Form besteht ein großer Unterschied. Zahllos sind die Versuche, welche ernste und tüchtige Forscher mit Hilfe von Reinkulturen gemacht haben, bei denen die Formen der Bakterien doch ineinander übergingen. Man hat Kokken sich in Stäbchen verändern sehen, Stäbchen in Vibrionen, diese wieder in Kokken etc., und das alles unter veränderten Umständen, die nicht so abnormal waren, daß sie nicht auch in der Natur hätten vorkommen können. Was hat man von solchen Versuchen zu halten? Viele Forscher nehmen sie als wahr an und schrecken doch vor einer konsequenten Anwendung der Resultate zurück, die darin bestehen muß, daß man die ganze Einteilung der Bakterien in Kokken, Stäbchen etc. fahren läßt. Aber damit würde ein großer Teil des Gebäudes der Bakteriologie fallen.

Eine Folge ist, daß man in den meisten Handbüchern einer gewissen Unsicherheit über diese Frage begegnet. Man fürchtet sie anzufassen, redet um die Dinge herum und kommt zu dem billigen Schluß, daß die Wahrheit wohl so etwa in der Mitte liegen müsse. Aber mit diesem Ausweg ist wenig getan.

Doch gibt es einzelne Forscher, die wohl zu sagen wagen, was sie von den Dingen halten, und die in scharf umrissenen Zügen angeben, inwieweit sie die Pleomorphie annehmen oder verwerfen. Zu ihnen gehören u. a. Migula und Duclaux. Der erstere, ein Gegner der Pleomorphie, erkennt z. B. in bezug auf die Mikrospora comma [2] an, daß diese als echte typische Kommaformen vorkommen können, die ungefähr dreimal so lang als breit sind, und eine deutliche Krümmung anzeigen; weiter in kürzeren Längen, wobei die Krümmung stärker oder schwächer sein kann, und endlich als sehr lange Formen, sechs- bis achtmal so lang als dick, mit einer sehr starken oder kaum bemerkbaren Krümmung. Er nimmt also, wie

---

[1]) Migula, W., System der Bakterien Bd. I, p. 221.
[2]) l. c., p. 234.

jeder Bakteriologe heute tut, an, daß die Größe der Zellen sich verändern kann, und auch, daß Unterschiede in der Form vorhanden sein können, letzteres jedoch innerhalb gewisser Grenzen, die der Charakter der Art bestimmt. Die Grenzen zieht er mit Bestimmtheit wenn er sagt: „Indessen so verschiedenartig auch die einzelnen Formen einer Art sein mögen, sie halten sich dennoch immer innerhalb der Grenzen, welche ihnen durch den Charakter der Gattung gezogen sind; niemals wird aus einer Microspora ein Spirillum oder ein Bacillus."

Einen entgegengesetzten Standpunkt nimmt mit eben so viel Bestimmtheit Duclaux ein. Nachdem er verschiedene Versuche angeführt hat, bei denen die Formen der Bakterien auf alle mögliche Weise ineinander übergehen, sagt er[1]: „Une classification est impossible à faire; il est impossible de trouver pour chaque microbe un petit nombre de propriétés assez nettes et assez constantes pour pouvoir assurer sa diagnose." Unter „Art" versteht darum Duclaux einen Bazillus von typischer Form, mit all den abweichenden Bazillen, die auf experimentellem Wege daraus gezüchtet werden können.

Bei einem methodischen Studium der Frage von der Pleomorphie wird ja doch immer wohl eine Schwierigkeit bleiben, die man nicht ganz auflösen kann.

Es ist diese: welche der veränderten Umstände, unter denen man die Form der Bakterien variieren sieht, sind abnormal, d. h. so, daß sie in der Natur nicht vorkommen, und welche sind normal. Einige Autoren z. B. wollen durchaus nicht leugnen, daß eine Bakterie in der Form eines Stäbchens, Vibrios und Kokkus vorkommen kann, wenn man nur die Kultur abnormalen Umständen aussetzt. Macé[2] sagt über den Proteus von Hauser: „Mais pour obtenir des variations de formes, il faut placer la Bactérie dans des conditions défavorables, en particulier la faire vivre dans un milieu acide."

Es ist wahr, daß viele Fälle von Pleomorphie, die bekannt geworden sind, gerade die Folge abnormaler Lebensbedingungen waren (cf. z. B. die bekannten Versuche von Guignard und Charrin mit Bac. pyocyaneus, von Schottelius mit Bac. prodigiosus etc.). In allen diesen Fällen konnten die Forscher die ursprünglichen Formen

[1]) Duclaux, Traité de microbiologie. I, 1898, p. 260.
[2]) Traité pratique de Bactériologie. 3me éd. 1897. p. 329.

wieder erlangen, wenn sie die Bakterien auch wieder in ihre ursprüngliche Umgebung brachten.

Andere Untersuchungen — zu zahlreich um aufgezählt zu werden — hat man angestellt, bei denen Veränderungen erschienen unter modifizierten Umständen, die man nur in blindem Vorurteil abnormal nennen kann.

In solchen Fällen nehmen die Gegner der Pleomorphie ihre Zuflucht zu einer anderen Waffe. Die Forscher sind dann bei ihrer vermeintlichen Reinkultur entweder nicht von einer Zelle ausgegangen, oder die Kultur ist später durch Luftinfektion verunreinigt worden.

Es ist nicht zu leugnen, daß beide Fälle vorkommen können. Die Möglichkeit einer Luftinfektion ist aber bekanntlich äußerst gering. Wenn man weiter mit der nötigen Vorsicht arbeitet und die Versuche, wo es darauf ankommt (wie bei den hier folgenden über Pleomorphie), nicht nur einmal ausführt, sondern gleichzeitig in verschiedenen Serien, und sie darauf noch einmal wiederholt, dann hat man Sicherheit, daß Luftinfektion nicht die Ursache fehlerhafter Resultate gewesen ist.[1]

Der andere Einwand, daß man bei der Reinkultur, die man mit der Kochschen Methode bekommen hat, nicht von einer Zelle ausgegangen ist, halte ich für bedeutungsvoller. Von verschiedenen Seiten hat man darauf gewiesen, daß der Plattenkulturmethode nicht zu trauen ist, wenn man nur einmal eine Platte ausgießt, und aus den daraus entstandenen Kolonien Kulturen anlegt, — eine üble Angewohnheit, die viele Forscher haben. Aber ich glaube nicht, daß alle Forscher Kochs Methode in dieser Weise in Anwendung bringen. Viele werden zweifellos nicht aus den zuerst entstandenen Kolonien direkt ihre Kulturen angelegt haben, sondern aus den Kolonien zuerst noch einmal eine Platte gegossen, und dies einige Male wiederholt haben, bevor sie ihre eigentlichen Versuche anstellten. Und nun darf Pleomorphie, die man bei solchen Versuchen gefunden hat, nicht so einfach geleugnet werden. Ich für meinen Teil glaube nämlich, daß unter solchen Vorsichtsmaßregeln die Methode

[1]) Die Möglichkeit einer Luftinfektion haben beide Methoden. Sie ist aber bei meinem Isolationsverfahren mindestens ebenso gering wie bei der Plattenkulturmethode. Während meiner sechsjährigen Versuchszeit ist mir noch nicht ein Fall vorgekommen.

von Koch nahezu vollkommene Zuverlässigkeit gibt[1], und dies ist auch die Absicht des Erfinders gewesen, dessen Methode nicht an Wert verlieren darf, weil andere sie verkehrt anwandten.

Aber absolute Zuverlässigkeit kann sie nicht geben. Jörgensen[2] sagt darum auch: „Wenn man auch die Plattenkulturen mehrere Male wiederholt, so weiß man doch in Wirklichkeit nie, ob das Ziel erreicht ist oder nicht.“ Darum hat Hansen[3] Kochs Methode auf die Weise für Hefezellen verbessert, daß er auf einem großen Deckglas eine Gelatineplatte ausgießt, die so dünn ist, daß man unter dem Mikroskop kontrollieren kann, ob die Zellen geschieden sind und wo sie liegen. Die Stellen werden angedeutet, und man kann die Entwicklung der Kolonien vom ersten Augenblick an verfolgen.

Für Bakterien ist dieses Prinzip natürlich undurchführbar, da man sie in einer noch so dünnen Gelatineschicht doch nicht liegen sehen und noch weniger von festen kleinen Partikelchen unterscheiden kann, die immer in kolossaler Menge darin vorkommen.

Ich meine darum, daß meine Isolierungsmethode für eine abschließende Untersuchung über die Veränderlichkeitserscheinungen bei Mikroorganismen notwendig ist, und zwar vor allem, weil man hierbei sicher ist, daß der Ausgangspunkt der Kultur eine Zelle ist, weiter, weil man die Variation schon bei den ersten Zellen der Kolonie kontrollieren kann, und nicht zum wenigsten, weil sie den Weg zu einem vergleichenden Versuch aller aufeinanderfolgenden Generationen bahnen kann (vergl. p. 13).

Die Versuche, die ich gemacht habe, sind geringer, als man nach dieser langen Einleitung erwarten sollte. Der Grund hierfür ist, daß ich noch keine Gelegenheit hatte, sie weiter fortzusetzen. Was ich aber gefunden habe, halte ich für nicht zu unwesentlich, um es hier mitzuteilen.

---

[1]) Dieses gilt natürlich nur, wenn man es mit kleinen Zellen zu tun hat, auf denen sich nicht leicht andere festsetzen. Für große Zellen, die aus einem stark verunreinigten Medium kommen, die oft mit Bakterien besetzt sind, bleibt (wie ich schon in der Einleitung sagte) der Einwand bestehen, daß sie durch Schütteln nicht isoliert werden können, selbst nicht, wenn man die Plattenkulturmethode mehrere Male anwendet.

[2]) Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. Berlin (Parey) 1898, p. 37.

[3]) ibid., p. 35.

I.

Dr. Kohlbrugge[1] hatte, während er an dem hiesigen hygienischen Institut Untersuchungen anstellte, für eine Untersuchung von Fäces Gelatineplatten angelegt und aus den Kolonien in Röhrchen mit Fleischgelatine übergeimpft. Nach einiger Zeit fand er in zwei Röhrchen eine Mischung von Stäbchen und Vibrionen, und weil er gerade mit einer Untersuchung über Vibrionen beschäftigt war, wollte er diese letzteren isolieren. Er goß zum zweiten Male eine Platte, diesmal von Fleischagar. Von den entstandenen Kolonien zeigte jedoch keine einzige Vibrionen, sondern alle bestanden aus kurzen Stäbchen. Er impfte auf Glyzeringelatine, und das Resultat war wieder: nur sehr kurze Stäbchen. Nach einiger Zeit aber, als die Gelatine flüssig geworden war, untersuchte er sie wieder, und nun kamen neben den Stäbchen wieder Vibrionen vor. Aus der flüssig gewordenen Gelatine goß er nun wiederum eine Agarplatte, und die Folge war, daß er wiederum nichts als kurze Stäbchen fand. Aus derselben Gelatine goß er auch eine Gelatineplatte und machte eine Stichkultur in Fleischgelatine. Im Anfang traf er nur kurze Stäbchen an, aber später, als die Gelatine flüssig geworden war, neben den Stäbchen auch Vibrionen. Auf keine Weise war es ihm möglich, eine Reinkultur von Vibrionen zu gewinnen; wohl von Stäbchen, wenn er nämlich eine Kultur in Bouillon, worin beide vorkamen, bei 37° setzte. Darin schienen die Vibrionen abzusterben, während die Stäbchen übrig blieben.

Kohlbrugge teilte mir endlich, nachdem alle Versuche, um die Sache aufzulösen, mißglückt waren, den rätselhaften Fall mit, und ersuchte mich, doch einmal einen Vibrio aus einer flüssigen Kultur für ihn zu isolieren.

Ich isolierte einige. Die Kulturtropfen bestanden aus Fleischgelatine. Die Deckgläschen, auf denen isoliert wurde, lagen auf feuchten Kammern, auf deren Boden ich noch ein Tröpfchen Wasser brachte. Am folgenden Morgen waren die Kolonien schon da, und wir konnten mit der stärksten Vergrößerung das Gewimmel der Vibrionen prachtvoll sehen. Am darauffolgenden Tage hatten die Kolonien an Größe stark zugenommen; sie nahmen ungefähr ein

[1]) Symbiose zweier pleomorpher Fäces-Bakterien (Arch. f. pathol. Anat. u. Phys. u. f. klin. Med. Bd. CLXIII, H. 3, p. 365).

Viertel von der Größe der Kulturtropfen ein. In allen sahen wir stark bewegliche Vibrionen. Wir machten auch gefärbte Präparate davon und sahen wieder nichts als Vibrionen. Darauf wurde aus den Kolonien auf drei verschiedene Nährböden geimpft, nämlich auf gewöhnliche Fleischgelatine, auf dieselbe zehnmal verdünnt, welche also flüssig war, und auf Peptonwasser (1 Prozent Pepton). Nach zwei Tagen machten wir farbige Präparate von diesen Kulturen. In den Kulturen auf gewöhnlicher Gelatine waren lebende Vibrionen, auch Stäbchen zu sehen, von beiden ungefähr gleichviel. Die Kulturen in flüssigen Nährböden zeigten beinahe nur Vibrionen.

Auch isolierte ich zwei Vibrionen in Fleischgelatine, und legte das Deckgläschen auf eine feuchte Kammer, auf deren Boden ich keinen Wassertropfen brachte. Die Oberfläche der Kulturtropfen war hier also trocken.

In Verbindung hiermit war auch ein Unterschied zu beobachten in der Gestalt der Bakterien aus den Kolonien. Während in den vorigen Kolonien, welche in einem mit Wasserdampf gesättigten Raum entstanden waren, alle Bakterien nach einigen Tagen noch als stark bewegliche Vibrionen in dem Kondensationswasser, welches auf den Kulturtropfen sich niedergeschlagen hatte, durcheinander wimmelten, entstanden hier aus der isolierten Vibrio schon im Anfang dicke Vibrionen, die unbeweglich waren (wahrscheinlich, weil sie vollständig trocken lagen), während eine Untersuchung der Kolonien, als sie drei Tage alt waren, neben den dicken Vibrionen schon Stäbchen sehen ließ.

Es ergab sich also auf jeden Fall mit vollkommener Sicherheit aus allen diesen Untersuchungen, daß eine Vibrio Stäbchen hervorbringen kann. Es war sehr wahrscheinlich, daß die physikalische Natur des Nährbodens hierbei eine große Rolle spielt, und zwar so, daß auf einem festen Nährboden Stäbchen, auf einem flüssigen Vibrionen entstehen.

Warum in flüssigen Nährböden im Anfang noch einige Stäbchen neben den Vibrionen vorkommen, wage ich nicht zu entscheiden. Aber bei Cholerakulturen ist dieses auch eine gewöhnliche Erscheinung.

Aus den Kulturen mit Vibrionen kann man wieder die Stäbchen zurückerhalten, wenn man auf feste Nährböden impft, und aus Kulturen mit Stäbchen erhält man die Vibrionen wieder, wenn man sie in flüssige Medien bringt. Wir haben hier also eine Erscheinung einer nicht erblichen Variation. Dieser Fall ist analog demjenigen,

dem BONNIER bei höheren Pflanzen nachgegangen ist. Dieser Forscher[1] brachte Pflanzen aus der Ebene auf die Berge, sah dort Veränderungen auftreten, brachte sie darauf wieder in die Ebene, und fand, daß sie ihre vorige Gestalt wieder annahmen.

Obgleich diese Experimente wohl einigen Anspruch auf Genauigkeit machen konnten, weil ich sie nicht mit einer, sondern mit mehreren Vibrionen gemacht hatte, beschloß ich doch, derselben Frage noch einmal nachzugehen. Insonderheit wollte ich noch einmal sehen, binnen wieviel Zeit man aus einem Vibrio ein Stäbchen, und aus einem Stäbchen wieder einen Vibrio machen könne.

Ich isolierte vier Vibrionen in Kulturtropfen von Fleischgelatine. Zwei davon ließ ich sich in einer feuchten Kammer, ohne Wasser auf dem Boden, entwickeln; die anderen mit einem Wassertropfen. Nach zwei Tagen kontrollierte ich die Kolonien. Die ersteren bestanden aus dicken, unbeweglichen, die letzteren aus dünneren, stark beweglichen Vibrionen. Von den Kolonien impfte ich auf Fleischagar, aus jeder Kolonie in ein Röhrchen. Nach zwei Tagen schien es bei Untersuchung der lebenden Zellen, wie der gefärbten Präparate, daß in allen Röhrchen nichts als sehr kleine bewegliche Stäbchen, höchstens 1 μ lang, vorkamen, einige so kurz, daß es beinahe Kokken waren. Aus jedem dieser Agarröhrchen impfte ich in Bouillon, gewöhnliche und zehnmal verdünnte Bouillongelatine. Nach zwei Tagen schienen alle flüssigen Nährböden nichts als große, stark bewegliche und stark gekrümmte Vibrionen zu enthalten, während auf der Fleischgelatine nur kleine, bewegliche Stäbchen vorkamen. Innerhalb 6 Tagen war also der Übergang vom Vibrio zum Stäbchen, und vom Stäbchen wieder zurück zum Vibrio abgelaufen.

Noch ein kurzes Wort will ich beifügen nach Anleitung einer Bemerkung, die KOHLBRUGGE in der oben genannten Abhandlung (pag. 375) macht.

Er sagt darin, daß das Stäbchen aus dem Gemenge von Vibrionen und Stäbchen, das ich auch für ihn isolierte, nach der Isolierung die Gelatine nicht mehr verflüssigte, aber vorher wohl. Das war vollkommen richtig. Der Grund für diese Erscheinung war, daß ich bei meinen ersten Experimenten die Nadeln beim Sterilisieren zuweilen tiefer in die Schwefelsäure als ins Ammoniak eintauchte. Da-

[1]) Recherches sur l'anatomie expérimentale des végétaux. G. BONNIER. ED. CRÉTÉ. Corbeil (S. et O.) 1896.

durch diffundierte, worauf ich oben (p. 21) schon verwiesen habe, die überflüssige Säure nach der Spitze der Nadel, zum Nachteile natürlich der isolierten Bakterien. Als ich unter Vermeidung dieses Fehlers das Stäbchen nochmals isolierte, schien sein Verflüssigungsvermögen nach der Isolierung ebenso stark zu sein.

II.

Bei einer Untersuchung über „Raggi", die ich in „'s Lands Plantentuin" zu Buitenzorg machte, wurde ich schon im Anfang durch eine Erscheinung, die meine Aufmerksamkeit erregte, auf einen Seitenweg geführt, den betreten zu haben ich mich aber nicht zu beklagen brauche.

Ich nahm nämlich wahr, daß die Sporangien von Rhizopus Oryzae, einem der beiden Pilze, die stets im Raggi gefunden werden, Sporen enthalten von sehr verschiedener Größe und Gestalt. Die kleinen waren meistens elliptisch, ± $6 \times 5\ \mu$ groß; daneben waren langgedehnte Sporen darunter, z. B. von $32 \times 8\ \mu$ und dazwischen allerlei Übergänge. Unter dem Eindruck der Untersuchungen von de Vries über Mutation, fragte ich mich unwillkürlich, ob die verschiedenen Sporen unter denselben Bedingungen ausgesäet, immer einen Pilz von derselben Form geben würden.

Bei meinen Experimenten ging ich immer von einem Sporangium aus, aus dem ich dann nach meiner Reinkulturmethode drei Sporen, eine kleine, eine mittelgroße und eine große aussuchte, und diese in Tropfen von derselben Nährflüssigkeit brachte (5 Prozent Glukose, $^1/_2$ Prozent Pepton, $^1/_{10}$ Prozent Monokaliumphosphat, $^1/_{20}$ Prozent Magnesiumsulfat). Dies alles geschah unter einem Deckgläschen, so daß die Bedingungen für alle drei dieselben waren. Als das Mycelium sich in einem Tropfen genügend entwickelt hatte, wurde es in ein Röhrchen mit Glukose-Pepton-Agar (obengenannte Mischung + 2 Prozent Agar) gebracht. Auch hierbei sorgte ich für vollständige Gleichheit des Nährbodens.

Zunächst schien es mir, daß die Entwicklung während der ersten 24 Stunden in gleichem Verhältnis zu der Größe der Spore war: später fiel der Unterschied weg oder war doch nicht mehr wahrnehmbar. Die mittelgroßen und die großen Sporen gaben stets den normalen Pilz. Die kleinen entwickelten sich in den ersten 3 Tagen nur bis zu einem gewissen Stadium (zu einem so kleinen Mycelium,

daß es noch bequem in dem Tröpfchen, in dem die Spore isoliert war, Platz hatte), blieben darauf einige Tage stehen und gingen dann in den meisten Fällen zugrunde. Doch waren auch solche darunter, die das kritische Stadium überwanden und dann sofort eine Zwergrasse gaben, die sich als erblich konstant erwies; sah ich doch während der vielen Impfungen, die ich gut 3 Jahre lang anstellte, keine Veränderungen. Wir haben hier also einen Fall von Mutation bei Pilzen.

Wenn man den normalen Pilz und die Zwergrasse (beide also von einem Sporangium herrührend) nebeneinander setzt, sieht man makroskopisch folgende Unterschiede:

Normal: Füllt nach 2 Tagen die untere Hälfte des Röhrchens ganz mit seinen langen Sporangienträgern, auf denen die ziemlich großen Sporangien sitzen.

Zwergrasse: Bildet nur eine filzartige Schicht auf der Oberfläche des Nährbodens; diese Schicht wird einige Millimeter dick; die Sporangienträger werden höchstens 4 mm lang.

Mikroskopisch findet man folgende Einzelheiten:

Normal: Diameter der Sporangien $\pm$ 180 μ, Dicke der Sporangienträger $\pm$ 16 μ. Die Sporen ungefähr 8×6 μ.

Zwergrasse: Diameter der Sporangien $\pm$ 70 μ, Dicke der Sporangienträger $\pm$ 8 μ. Mittlere Größe der Sporen 6×4 μ. Sehr dünne Sporangiumwand, was auch daraus deutlich wird, daß man mit einer Impfnadel niemals ganze Sporangien überimpfen kann, da sie beim Berühren sofort zertrümmert werden. Das ist bei der normalen Form absolut nicht der Fall.

Es ist mir noch nicht klar, welche Faktoren das Absterben des Myceliums von einer kleinen Spore bewirken, und welche Faktoren es dieses Stadium überleben lassen, um dann eine Zwergrasse zu formen.

Zusammenfassung.

1) Die neue Methode zur Herstellung von Reinkulturen läßt sich kurz hierin zusammenfassen: Unter dem Mikroskop wird, wenn nötig bei stärkster Vergrößerung, mit Hilfe von feinen Glasösen, eine Zelle aus einem Tropfen mit verschiedenen Mikroorganismen isoliert und in einen sterilen Tropfen gebracht, worin sie sich zu einer Reinkultur entwickelt.

2) Der Nachteil dieser Methode (wenn ich das einen Nachteil nennen darf) besteht hierin, daß sie an die, welche sie anwenden, höhere Forderungen stellt als die von Koch. Ich vermute darum, daß ganz unpraktische Menschen sie nicht immer mit Befriedigung anwenden werden. Auch fordert sie wohl mehr Zeitaufwand.

3) Der allgemeine Vorteil besteht darin, daß man mit ihr Mikroorganismen sozusagen individuell behandeln kann. Wenn man sie bei Reinkulturen anwendet, hat man vollkommene Sicherheit, daß die einzelne Kultur aus nicht mehr als einer Zelle entstanden ist. Weiter kann man die Zelle, die man isolieren will, auswählen,[1] und nach der Isolierung genau kontrollieren, was mit der Zelle vorgegangen ist. Die Entwicklung der Reinkultur kann man dann auch vom ersten Augenblick an mit starker Vergrößerung beobachten, besonders wenn der Nährboden fest ist.

Dieses sind Vorteile, welche die Plattenkulturmethode nicht darbietet, da sie niemals vollkommen Sicherheit zu geben vermag, daß alle Kolonien aus einer Zelle entstanden sind; da ferner beim Gießen einer Platte stets uns unbekannt bleibt, welche Zellen sterben, welche sich weiter entwickeln, und was anfänglich mit diesen letzteren passiert,[2] und endlich, weil man bei einer Plattenkultur niemals die Entwicklung der Kolonien mit der stärksten Vergrößerung kontrollieren kann.

4) Diese Methode kann für eine endgültige Untersuchung aller möglichen Fragen, die Pleomorphie betreffen, dienen. Man geht hier nämlich von einer Zelle aus und kann sofort sehen, welche die Form der Zellen ist, die daraus entstehen. Ich zweifle nicht, daß man auch alle aufeinander folgenden Generationen wird untersuchen können.

Gilt das Gesagte speziell für die Herstellung von Reinkulturen, so sind doch auch noch andere Anwendungen möglich. Man wird mit Hilfe dieser Methode allerlei Mikroorganismen miteinander in Berührung bringen oder verschiedenen Experimenten unterwerfen können. Man wird also z. B.:

---

[1]) Das ist besonders von Bedeutung, wenn man mit einem Material zu tun hat, bei dem ein großer Teil der Zellen mit Bakterien besetzt ist.

[2]) Es können denn auch beim Gießen von Plattenkulturen oft sehr rätselhafte Fälle sich einstellen, in denen die Kochsche Methode, auch bei wiederholter Anwendung uns im Stiche läßt (cf. oben die Vibrionen von Kohlbrugge).

5) die Frage der Kopulation mit ihr untersuchen können. Es gibt im Tier- wie im Pflanzenreich viele Fälle, wo man nicht weiß, ob man es mit Kopulation zu tun hat. Das ist natürlich kaum auszumachen, wenn solche Zellen, die oft beweglich sind, sich in großen Tropfen zugleich mit anderen Organismen befinden. Jetzt ist man imstande auf einem Deckglas in verschiedenen kleinen Tropfen zwei Zellen zusammen zu bringen; man kann also viel bequemer untersuchen, ob Kopulation stattfindet. Konnte man dieses früher nur zufällig sehen, so hat man jetzt eine sichere Methode.

6) Man wird vielleicht unter dem Mikroskop verschiedene Experimente über Symbiose und Parasitismus niederer Organismen machen und diese von Anfang an kontrollieren können.

7) Schließlich will ich noch darauf weisen, daß für rein technische Zwecke der Isolierungsapparat nützlich sein kann. Das Sortieren von sehr feinem Planktonmaterial und die Anfertigung von Dauerpräparaten davon (besonders einzelner Organe), wird bequemer und mit größerer Exaktheit vorgenommen werden können als unter der Lupe oder dem Präpariermikroskop aus freier Hand. Die Untersuchung oder das Zeichnen lebender Mikroorganismen, die stark beweglich sind (z. B. Infusorien, Schwärmsporen), ist oft nicht möglich, da sie fortwährend aus dem Gesichtsfelde des Mikroskops verschwinden. Mit Hilfe des Isolierungsapparates kann man sie aber in ein kleines Tröpfchen überführen, wenn nötig so klein, daß sie genau hineinpassen und sich also nicht drehen können.

8) Um den Wert der Methode zu bestimmen, speziell was die Anfertigung von Reinkulturen betrifft, sind mit ihr Reinkulturen von einer großen Anzahl Mikroorganismen (Bakterien, Hefe- und Pilzarten) angefertigt, auch von solchen, bei denen die Züchtung bisher nach der Plattenkulturmethode mehr oder weniger Nachteile hatte.

9) Die Methode ist angewendet für die Untersuchung der Frage nach der Pleomorphie; mit vollkommener Sicherheit ist bewiesen, daß ein Vibrio sich in ein Stäbchen und ein Stäbchen sich in ein Vibrio verändern kann.

10) Der Bacillus, der zu diesen Experimenten diente, zeigte die Form eines großen Vibrios auf einem gewöhnlichen, flüssigen Nährboden und die Form eines kurzen Stäbchens auf demselben Nährboden, wenn dieser mit Gelatine festgemacht war.

11) Der Übergang vom Vibrio zum Stäbchen und vom Stäbchen wieder zum Vibrio kann in 6 Tagen sich vollziehen.

12) Mit Hilfe dieser Methode ist es geglückt, durch Mutation eine Zwergrasse aus einem Pilz (Rhizopus Oryzae) entstehen zu lassen. Während der vielen Impfungen, jetzt 3 Jahre lang ausgeführt, erwies sich diese Zwergrasse als konstant.

* * *

Am Ende dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. F. A. F. C. Went, Direktor des botanischen Instituts, und Herrn Prof. C. Eykman, Direktor des hygienischen Instituts, meinen herzlichen Dank auszusprechen für das freundliche Interesse, das sie meiner Arbeit entgegengebracht haben.

[Eingegangen am 16. Februar 1905.]

Über Eisenhämateïn, Chromalaunhämateïn, Tonerdealaunhämateïn, Hämateïnlösungen und einige Cochenillefarblösungen.

Von

F. C. C. Hansen,

am Normalanatomischen Institut der Universität Kopenhagen.

I. Die Eisenhämateïne.

In seiner großen Arbeit: „Neue Untersuchungen über Zentralkörper“ (Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIII, 1894), sagt Martin Heidenhain bei Besprechung seiner Eisenhämatoxylinmethode folgendes: „Natürlich habe ich auch versucht in Analogie des Böhmerschen Prinzipes (Hämatoxylin-Aluminium-Farben) das Eisenhämatoxylin in Lösung zu erhalten, die Farbe somit, wie Benda sich treffend ausdrückt, als ‚Tinte‘ zu verwerten, allein hierbei erhielt ich nur minderwertige Tinktionen.“

Später hat Fr. A. Janssens und A. Leblanc (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XV, p. 264) den Ammoniakalaun in Delafields Gemisch durch Eisenalaun ersetzt und zur Färbung der Kerne der

Hefezellen benutzt; jüngst hat KARL WEIGERT (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI, 1904, p. 1—5) ein Eisenhämatoxylin angegeben, nämlich: A) 1 g Hämatoxylin in 100 cc 96prozentigem Alkohol gelöst. B) 4 cc Liqu. ferri sesquichlorati (Ph. G. IV. enthält ca. 10 Proz. Eisenchlorid) + 1 cc offizin. Salzsäure (enthält ca. 25 Proz. HCl) und 95 cc Aqu. destill.

Von A und B werden gleiche Teile gemischt, man erhält keine Fällungen, sondern eine schwarze Lösung, welche wiederholt benutzt werden kann, aber am besten jedesmal frisch bereitet wird (Färbedauer wenige Minuten). Die Färbung wird als Kernvorfärbung für „VAN GIESON"-Färbung benutzt.

Selbst hatte ich auch seit 1899 vielfach eine schnelle Eisenhämatoxylinmethode benutzt, die im wesentlichen eine modifizierte BENDAsche war: Kurze Beizung der Schnitte mit Eisenchloridlösung (4 Prozent) — aber in der Wärme, und hernach Behandlung, ebenfalls in der Wärme, mit stark oxydierter,[1] wässerig alkoholischer Hämateïnlösung, Differenzierung in der Eisenchloridlösung. Es war also etwas ähnliches, wie das von GURWITSCH angegebene Schnellverfahren.

Verschiedene Umstände veranlaßten mich im vorigen Jahre einmal wieder mit Hämatoxylin- und Hämateïnfarben mich genauer zu beschäftigen, und die für jeden Mikrotechniker naheliegende Idee, über welche sich MARTIN HEIDENHAIN (wie ich später fand) loc. cit. 1894 so unzweideutig geäußert hat, versuchte ich weiter auszuarbeiten. Meine Resultate sind so befriedigend gewesen, daß ich glaube, die nachstehenden Farblösungen für den weiteren Gebrauch empfehlen zu können; wir haben dieselben hier im Institute vielfach benutzt. Daß sie die altbewährten Eisenhämatoxylinmethoden von BENDA und HEIDENHAIN überall ersetzen sollen, ist nicht von mir beabsichtigt.

* * *

Durch die grundlegenden Untersuchungen OTTO LINNÉ ERDMANNS[2] im Jahre 1842 über das Hämatoxylin, wurde definitiv gezeigt, daß die eigentlich färbenden Eigenschaften nicht dem Hämatoxylin, sondern dem von ERDMANN zuerst chemisch rein dargestellten und genau untersuchten Hämateïn zukommen; das Hämatoxylin färbt nur,

[1]) Mit der berechneten Menge Kaliumpermanganat nach meiner Methode; siehe später.

[2]) ERDMANN, O. L., Über das Hämatoxylin (Journ. f. prakt. Chemie Bd. XXVI, 1842, p. 193—216).

wenn es durch Oxydation in Hämateïn, resp. Hämateïnverbindungen oder in noch höhere Oxydationsstufen überführt wird. — Durch die Arbeiten von GERHARDT, ERDMANN und HESSE wurde die Elementarformel des Hämatoxylins genau bestimmt, sie ist bekanntlich: $C_{16}H_{14}O_6$ und kristallisiert mit 1 H_2O (rhombisch) oder mit 3 H_2O (tetragonal). Letztere Verbindung dürfte infolge der Darstellungsmethode des Hämatoxylins die gewöhnlich im Handel vorkommende sein. Alle Angaben im folgenden beziehen sich daher auf das mit 3 H_2O kristallisierende Hämatoxylin. Das Molekulargewicht desselben ist: 302 + 54 = 356.

Das Hämateïn entsteht aus dem Hämatoxylin, indem zunächst 2 Atome Wasserstoff wegoxydiert werden, dagegen tritt, wie ERDMANN[1] zuerst meinte, kein Sauerstoff in das Molekül ein. Die Reaktion ist also:

$$\underbrace{C_{16}H_{14}O_6}_{\text{Hämatoxylin}} + O = \underbrace{C_{16}H_{12}O_6}_{\text{Hämateïn}} + H_2O.$$

Das Molekulargewicht des Hämateïns ist also 300. Die für analytische Zwecke angegebene Darstellungsweise des Hämateïns wurde ursprünglich von O. L. ERDMANN 1842 genau angegeben und ist mit geringen Modifikationen[2] die noch gebräuchlichste (sie steht beschrieben loc. cit. 1842, p. 205—207).

Hämatoxylin wird in nicht zu kleiner Quantität in heißem Wasser, worin es leicht löslich ist, gelöst, ein kleiner Überschuß von Ammoniak wird zugesetzt, die also alkalische purpurne Lösung in eine flache Schale gegossen und lose zugedeckt der Oxydation des Luftsauerstoffs überlassen. Ammoniak muß immer im Überschuß zugegen sein, und die Oxydation muß bei immer vorhandenem Überschuß von Hämatoxylin verlaufen, sonst erhält man leicht höhere Oxydationsprodukte als Hämateïn.[3] Ich kann ERDMANN nicht in extenso zitieren, aber jeder mit Hämatoxylin arbeitende Mikrotechniker sollte diese

[1]) loc. cit. 1842.

[2]) Siehe auch meinen Artikel: Über Oxydationsmittel für Hämatoxylin: vgl. O. L. ERDMANN, loc. cit., HESSE, loc. cit. (p. 338) 1859, E. ERDMANN, SCHULTZ, loc. cit. 1883, p. 236 u. a.

[3]) Die Unkenntnis mit diesen und andern schon 1842 von ERDMANN angegebenen Verhältnissen hat sicherlich die Mißerfolge vieler Mikrotechniker mit dem (ähnlichen) PAUL MAYERschem Rezepte (1891) zur Darstellung des Hämateïnammoniaks verursacht.

und die andern Originalarbeiten lesen, „überflüssige Entdeckungen“ würde es dann weniger geben.

Nun läßt sich natürlich die Oxydation des Hämatoxylins in das färbende Hämateïn auch durch viele andere Oxydationsmittel vornehmen, und viele chemische Stoffe, welche leicht Sauerstoff abgeben, sind dazu geeignet.[1]

Auch in der Mikrotechnik des Hämatoxylins tut man gut daran, quantitativ zu verfahren, wie ich[2] es 1895 angegeben habe. Die Bedingung ist nur die, daß man die Reaktionsgleichung für die Einwirkung des Sauerstoffspenders auf das Hämatoxylin kennt. Wünscht man die zur Überführung in Hämateïn (oder noch höhere Oxydationsprodukte) pro 1 g Hämatoxylin (tetragonal) nötige Menge eines beliebigen Sauerstoffspenders zu kennen, so läßt sich diese Größe dann aus den chemischen Formeln leicht berechnen. Ein Molekül Hämatoxylin braucht zur Überführung in Hämateïn 1 Atom Sauerstoff; setzt man das Grammolekül Hämatoxylin als 356, und ist n die Anzahl Sauerstoffatome, welche ein Grammol (GM.) des Sauerstoffspenders zur Oxydation des Hämatoxylins in Hämateïn der Reaktionsgleichung gemäß abzugeben vermag, so gibt folgende Gleichung die pro 1 g Hämatoxylin nötige Menge eines beliebigen Sauerstoffspenders mit einer für unsere Zwecke allgemein genügenden Genauigkeit:

$$X = \frac{0{\cdot}0028 \cdot \text{GM.}}{n}$$

1 g Hämatoxylin braucht zur Überführung in Hämateïn folgende Mengen der unten beispielsweise aufgezählten Stoffe:

von Kaliumpermanganat . . . . . . 0·177 g
„ Kaliumbichromat . . . . 0·276 „
„ Kaliumchlorat[3] . . . . 0·114 „

[1]) Siehe meinen Artikel über Oxydationsmittel für Hämatoxylin.

[2]) Eine schnelle Methode zur Darstellung des Böhmerschen (Alaun-) Hämatoxylins (Zool. Anz. No. 375, Febr. 1895).

[3]) Bei der Anwendung von Chloraten und Perchloraten muß die Reaktion in saurer Lösung geschehen, und es muß als Sauerstoffüberführer eine ganz geringe Menge von Kupfer-, Chrom-, Eisen- oder, wie ich immer anwende, 1 bis 2 mg Vanadinsalz zugegen sein; die Demonstrationsversuche ohne Säure und mit Säure, ohne „Transferrer“ und mit Transferrer sind sehr instruktiv (s. meinen Artikel „Über Oxydationsmittel“ etc.).

von Kaliumperchlorat . . . . 0·097 g
„ Kaliumjodat . . . . 0·200 „
„ Kaliumbijodat . . . . 0·182 „
„ Natriumjodat (PAUL MAYER 1904) . . 0·187 „ etc.

Bei ERDMANN (1842) steht u. a. p. 205: „Eisenalaun[1] erzeugt (mit Hämatoxylin) erst nach einiger Zeit einen geringen schwarzvioletten Niederschlag." p. 212 steht: „Das Hämateïn-Ammoniak gibt mit den meisten Metallsalzen gefärbte Niederschläge. Mit essigsaurem Bleioxyd einen dunkelblauen Niederschlag, mit schwefelsaurem Kupferoxd bildet sich ein blauer ins violette geneigter Niederschlag. Mit salpetersaurem Wismutoxyd prachtvoll violetter Niederschlag. Mit Eisenalaun schwarzer Niederschlag. Mit Eisenchlorür [!] violetter Niederschlag." Ähnliche Angaben finden sich in allen Chemien die Farbstoffe betreffend.

In der praktischen Färberei werden diese Eigenschaften bekanntlich schon lange ausgenützt.

* * *

Was speziell die Eisenhämatoxylinfärbung betrifft, haben wir es bekanntlich[2] mit folgenden Verhältnissen zu tun. Die Eisenbeize muß am besten eine Eisenoxydverbindung sein. Verwendet man z. B. den Eisenalaun, so geschieht folgendes:

1) Es fixieren sich auf dem mikroskopischen Schnitt (oder den Geweben) basische unlösliche oder schwerlösliche Eisenoxydverbindungen, z. B. basische Salze.

2) Dieselben bilden mit verschiedenen Farbstoffen schwer-, resp. unlösliche gefärbte Verbindungen — Lacke. Wird z. B. Hämatoxylin verwendet, ist die Wirkung eine doppelte; einerseits wird das Hämatoxylin in Hämateïn (oder in noch höhere Oxydationsstufen, darüber später) von einem Teil des Eisenoxydsalzes überführt,[3] wobei sich Eisenoxydulverbindung bildet.

[1]) Dies trifft, wie meine Angaben unten zeigen, nicht ohne weiteres zu: man muß dann nämlich eine nicht zu konzentrierte Hämatoxylinlösung, welche einige Zeit (wohl verschlossen) gestanden hat, nehmen, ferner muß diese Lösung, sowie die Eisenalaunlösung kalt und letztere Lösung nicht zu verdünnt sein, sonst geschieht die Oxydation in Hämateïn und „Ferrolackbildung", wie ich angeführt habe.

[2]) Den Chemikern vom Fach ist dies lange bekannt und von ihnen habe ich es meinerseits wieder gelernt.

[3]) Vgl. P. MAYER im Anat. Anz. Bd. XIII, 1899, p. 319 (die Note!). Dieser, um die Mikrotechnik so verdiente Forscher, hat diejenigen Mikro-

Anderseits verbindet sich der Rest des basischen Eisensalzes oder Oxydes mit dem gebildeten Hämateïn; die färberischen Eigenschaften dieses Eisenlackes haben BENDA und M. HEIDENHAIN mit so großem Erfolge in der Mikrotechnik verwertet. — Wird Hämateïnlösung gebraucht, könnte jedenfalls die oxydierende Wirkung des Eisenoxyds wegfallen (gewöhnlich tut sie es aber nicht, darüber später; vgl. auch P. MAYER, loc. cit.), und könnte man statt der Eisenoxydverbindung auch Eisenoxydulverbindungen als Beizen verwenden, was ich auch tatsächlich mit Erfolg getan habe.

Man kann also zweifach verfahren: Entweder getrennt beizen und färben oder beides gleichzeitig tun (BENDA, HEIDENHAIN, WEIGERT). Beizende Eigenschaften kommen im hohen Grade solchen Stoffen zu, welche teils leicht basische Salze, teils oder zugleich Verbindungen von mehreren Oxydationsstufen bilden (auf andere Beizen gehe ich hier natürlich nicht ein). Daher die allgemein übliche Verwendung von Aluminium-, Eisen-, Chrom- (und Kupfer-) Verbindungen, welche uns in der Mikrotechnik überwiegend interessieren.

* * *

Betrachten wir zunächst die Eisenverbindungen. Gewöhnlich verwendet man den Eisenalaun-Ferriammoniumsulfat

$$\overset{\text{VI}}{Fe_2}(SO_4)_3, (NH_4)_2 SO_4 + 24 H_2O.$$

Mol. = 965. Löst man diesen Stoff in (ausgekochtem) Wasser, so wird, was wichtig ist, eine teilweise Hydrolyse des Eisenoxydsulfates eintreten, die Lösung färbt sich gelb, gelbbraun und enthält außer unzersetztem Eisenoxydsulfat[1] freie Schwefelsäure und kolloidal gelöstes Ferrihydroxyd. Mit steigender Temperatur wird die Hydrolyse stärker und daher auch die Braunfärbung der Lösung; eben diese hydrolytische Spaltung ist für die beizenden Eigenschaften der Lösung wichtig, ebenso erhellt sich hieraus das Faktum, daß die Beizung[2] in der Wärme schneller geht. Es lassen sich diese Verhältnisse durch Versuche leicht demonstrieren; die gebildete freie

---

techniker, welche dieses Verhalten des Hämatoxylins vorher nicht kannten, darauf aufmerksam gemacht und auch hierhergehörige Experimente angegeben.

[1]) Von der Ionisation sehe ich hier ab.

[2]) Die Ablagerung von basischen Verbindungen in dem Gewebe — also auch die Färbung.

Säure (auch z. B. aus einer Eisenchloridlösung) kann man beispielsweise teilweise wegdiffundieren lassen, wodurch der Gehalt der Eisenbeizlösung an kolloidalem Ferrihydroxyd zunimmt. Eine solche Eisenlösung beizt auch in der Kälte weit schneller und stärker als eine gewöhnliche Lösung des Eisensalzes.

Eine größere Verdünnung der Eisensalzlösung vermehrt die Hydrolyse, begünstigt somit die Ablagerung von Eisenoxyd, resp. von basischen Salzen in den Geweben, aber zugleich setzen auch solche Salze sich im Gefäß nach einiger Zeit ab. Der Konzentrationsabnahme entsprechend wird aber von einer gewissen Grenze ab die Beizung absolut schwächer.

Daß die Abspülung der gebeizten Schnitte in Brunnenwasser (alkalisch, kohlensäurehaltig!) ebenfalls die Bildung von Eisenhydroxyd, resp. basischen Salzen begünstigt, ist ohne weiteres klar.

Umgekehrt verringert ein Zusatz von freier Säure zur Eisensalzlösung deren Beizwirkung entsprechend der Massenwirkung. Soll daher die Eisenalaunlösung beim Stehen keine unlösliche basische Verbindungen in der Flasche absetzen, so nehme man eine etwas stärkere Lösung als $1^1/_2$ Prozent, z. B. 5 Prozent, in der die Hydrolyse r e l a t i v geringer ist. Auch kann man der Lösung eine entsprechende Menge Schwefelsäure zusetzen, dadurch wird die Hydrolyse ebenfalls vermindert; bei größerem Überschuß an freier Säure wird die Hydrolyse ganz aufgehoben erscheinen, statt der braunen, braungelben Farbe, hat man eine ganz schwach gelblich gefärbte oder ungefärbte Flüssigkeit. Was d i e o x y d i e r e n d e W i r k u n g der Ferrisalze (Ferrisulfat, Eisenalaun, E i s e n c h l o r i d etc.) betrifft, so verläuft die Reaktion in den einfachen Fällen (in saurer Lösung) folgendermaßen:

$$\underbrace{\overset{\text{VI}}{Fe_2(SO_4)_3}}_{\text{Ferrisulfat}} + H_2O = \underbrace{2\,\overset{\text{II}}{Fe}SO_4}_{\text{Ferrosulfat}} + H_2SO_4 + O$$

also 1 g Mol. F e r r i s a l z v e r m a g 1 g M o l. H ä m a t o x y l i n i n H ä m a t e ï n z u ü b e r f ü h r e n.

N i m m t m a n E i s e n a l a u n, F e r r i a m m o n i u m s u l f a t, s o b r a u c h t m a n d a v o n 2·71 g u m 1 g H ä m a t o x y l i n i n H ä m a t e ï n z u o x y d i e r e n, unter der Voraussetzung, daß die Reaktion quantitativ verläuft, und dies dürfen wir der Hauptsache nach annehmen. Die Reaktionsgleichung ist:

$$\text{I}: \underbrace{\overset{\text{VI}}{Fe_2}(SO_4)_3; (NH_4)_2SO_4}_{\text{Ferriammoniumsulfat}} + H_2O = \underbrace{\overset{\text{II}}{Fe}SO_4; (NH_4)_2SO_4}_{\text{Ferroammoniumsulfat}} + \overset{\text{II}}{Fe}SO_4 + H_2SO_4 + O_1$$

$$\text{und II}: \underbrace{C_{16}H_{14}O_6}_{\text{Hämatoxylin}} + O_1 = \underbrace{C_{16}H_{12}O_6}_{\text{Hämateïn}} + H_2O.$$

Es tritt also Ferroammoniumsulfat (MOHRS Salz), Ferrosulfat[1] und freie Schwefelsäure auf, wenn in einer Eisenalaunlösung Hämatoxylin zu Hämateïn oxydiert wird, und es läßt sich leicht zeigen, daß Hämateïn sowohl mit dem Ferrosulfat als auch mit dem Ferroammoniumsulfat[2] dunkelviolette bis schwarzviolette Verbindungen eingeht. (Conf. ERDMANN 1842[3] und später.) Und dasselbe tritt natürlich ein mit dem bei der Oxydationsreaktion entstandenen Ferrosalze, wie der Versuch leicht zeigt. Eine der „blauen“ Methode MARTIN HEIDENHAINS ganz ähnliche Färbung läßt sich mit „Ferrohämateïn“ folgendermaßen ausführen.

1·355 g Eisenalaun wird kalt in 50 g (sauerstofffreiem und kohlensäurefreiem) ausgekochtem Wasser gelöst; 0·50 g Hämatoxylin wird ebenso in 50 g ausgekochtem heißem Wasser gelöst und hernach abgekühlt, wobei das Hämatoxylin bekanntlich nicht wieder ausfällt. Die angegebene Menge Eisenalaun reicht gerade hin, um alles Hämatoxylin in Hämateïn zu überführen. Dies beginnt gewöhnlich auch in der Kälte, sobald man die eine Lösung in die andere gießt; am besten werde die Eisenlösung langsam unter stetem Umrühren in die Hämatoxylinlösung gegossen. Die Hämatoxylinlösung wird bei Erwärmung sehr schnell in Hämateïn überführt, höhere Oxydationsstufen kommen zunächst nicht vor, weil einerseits niemals Überschuß an Sauerstoff vorhanden ist, und auch die gebildeten Ferrosulfate eine andersweitige Oxydation vorläufig verhindern.

Man erhält eine dunkelviolette Lösung, welche reichlich schwarze Ausfällung enthält. Diese Lösung enthält die Verbindung von Häma-

---

[1]) P. MAYER hat 1899 das Auftreten von Ferrosulfat besprochen (siehe loc. cit.).

[2]) Durch vorheriges Hinzufügen der berechneten Menge Ammoniumsulfat läßt sich das gebildete Ferrosulfat in der Form des stabileren Ferroammoniumsulfats erhalten.

[3]) loc. cit. p. 219.

teïn und Ferrosalz (Hämatoxylin und Ferrosalz verhält sich ganz anders, ist nicht gefärbt). Die Lösung, welche, um die Luftoxydation möglichst zu vermeiden, nicht filtriert wird, färbt beim Versuch sogleich sehr schnell die Schnitte mit schwarzvioletten oder fast ganz schwarzen Kernen, Plasma mehr violett, glatte Muskeln und Bindegewebe ebenso; Kittleisten, Centrosomen lassen sich bei passender Anwendung auch färben. Die Färbung ist gegen starke Essigsäure sehr resistent. Um seiner Sache ganz sicher zu sein, mag man mit Ferrosulfat (konz. Lösung) nachbehandeln (eventuell mit einer Spur von Oxalsäurezusatz). Auch kann man die Farblösung mit einer reinen Lösung von Ferroammoniumsulfat vermischen (dieselbe löst nicht unbedeutend die schwarzviolette Lackverbindung) und hernach färben (Schnitte vorher mit sauerstofffreiem Wasser behandelt). Es kann kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß wir hier die ERDMANNsche Ferrohämateïnverbindung auf die Gewebe fixiert haben.[1] Natürlich läßt sich auch Eisensulfat (Ferrosulfat) verwenden, wobei man der Lösung eine Spur von Oxalsäure zusetzt, um sicher alles Eisenoxydsulfat zu reduzieren;[2] und zur Abwechslung kann man also die von mir unten angegebene[3] (frisch bereitete) Hämateïnlösung verwenden. Die Resultate sind auch auf diese Weise ganz ähnlich, nur werden die Töne mehr schwarzgrau.[4] Ferrohämateïn löst sich in nicht unbedeutender Menge in Eisensulfatlösung, freie Schwefelsäure begünstigt die Lösung.

Auch in Ferroammoniumsulfat kann man die Hämateïnlösung oder die Hämatoxylinlösung in diese Oxydulsalzlösung gießen und nachträglich mit der berechneten Menge Sauerstoffspender (Kaliumpermanganat, Ferriammoniumsulfat) oxydieren.

Die Resultate sind ähnlich. Verwendet man statt Hämateïnlösung die (nach meiner Angabe unten) 2 bis 3 fach oxydierte, also die Oxyhämateïne, so werden die Färbtöne viel schwärzer, resp. ganz schwarz, auch mit Eisenoxydulsalzen. Es läßt sich zeigen, daß

[1]) Doch mögen bei der „blauen" Farbe HEIDENHAINs die Kalksalze des Leitungswassers etwas mitwirkend sein. Bei dem kürzeren Beizen bei der HEIDENHAINschen blauen Methode fixiert sich weniger Ferrioxyd auf das Gewebe, so daß die disponible Sauerstoffmenge nur zur Bildung von Hämateïn, jedenfalls nicht zur Bildung von so großen Mengen der höheren Oxydationsprodukte hinreicht, daß die Färbung schwarz würde.

[2]) Rhodankaliumprobe.

[3]) Mit Kaliumpermanganat quantitativ oxydiert.

[4]) Ob sich wohl mehr Eisensalz an das Hämateïnmolekül anlagert?

eine Oxydation der Eisenoxydulverbindungen seitens der Hämateïne und Oxyhämateïne gewöhnlich nicht vorkommt; darüber später.

Wichtig für die Färbung mit Eisenhämateïn und besonders für die Elektion ist natürlich die aus den Ferriverbindungen abgespaltete Schwefelsäure.

Ist dagegen Überschuß an Eisenoxydverbindungen vorhanden, so ist teils Sauerstoff zur höheren Oxydation des Hämateïns disponibel, teils treten die Eisenoxydlacke auf. Die genaue Untersuchung dieser Verhältnisse muß natürlich quantitativ vorgehen und läßt sich auch nicht allzuschwer ausführen.

Die Bedeutung der Oxydationsstufe des Hämateïns habe ich untersucht, dagegen nicht, wie viele Eisenatome mit dem Hämateïnmolekül verbunden sind, dazu fehlten mir die Gelegenheit und die Mittel.

* * *

Als ich zur Ausprüfung einer Eisenhämateïnlösung ging, entschied ich mich nach vielen Versuchen für das von M. Heidenhain gebrauchte Ferriammoniumsulfat, welches entschieden mehrere Vorzüge den übrigen, auch leichtzugänglichen Eisenoxydsalzen gegenüber besitzt. Ferner waren mehrere Punkte zu berücksichtigen.

Es mußte genügend Eisenoxydsalz vorhanden sein, wenigstens genug, um das Hämatoxylin in Hämateïn zu überführen. Die dazu erforderliche Menge beträgt per 1 g Hämatoxylin 2·71 g Ferriammoniumsulfat.[1]

Der Eisenhämateïnlack ist bekanntlich sowohl in Säuren als auch in den sauer reagierenden Eisensalzlösungen[2] löslich, was ja Benda und M. Heidenhain zur Differenzierung der Färbungen benutzten.

Diese Verhältnisse benutzte ich analog dem (Tonerde-)Alaunhämateïn, wo ja auch der Farblack in Überschuß des sauer reagierenden Salzes löslich ist. Aus Gründen, die sich für den Kundigen leicht aus den vorhergehenden Auseinandersetzungen ergeben, ist die Farbwirkung der Lösung bei Verwendung des Eisenalauns als Lösungsmittel entschieden günstiger, als wenn man Säuren verwendet.

---

[1]) Der Einfachheit halber lasse ich den Eisenalaun den Sauerstoff liefern, aber auch andere Sauerstoffspender habe ich mit Erfolg angewandt. Man kann auch, wie ich getan habe, mittels Kaliumpermanganat das Hämatoxylin quantitativ oxydieren, so hoch man will.

[2]) Nicht bloß in Oxydsalzen, sondern auch in Eisenoxydulsalzen, auch in andern, z. B. Tonerdealaun, ist der Eisenlack löslich.

Die Ausprüfung der besten Farblösungen hat viele variierende Versuche mit Farblösungen und Probefärbungen erfordert, die ich aber hier übergehe, und es hat sich herausgestellt, daß die von mir färberisch ausgeprüfte Lösung einer ganz bestimmten Oxydationsstufe des Hämateïns entspricht.

* * *

Als für allgemeine Zwecke am meisten geeignet empfehle ich folgende Lösung:

1) 10 g reines Eisenalaun (Ferriammoniumsulfat) wird in der Wärme gelöst in 150 g destillierten Wassers;

2) 1·6 g Hämatoxylin wird in 75 g destillierten Wassers in der Wärme gelöst, diese Menge braucht zur Oxydation in Hämateïn 4·34 = (2·71 + 1·63) g Eisenalaun.

Das Hämatoxylin fällt nach der Auflösung nicht wieder aus beim Erkalten. Die beiden ganz kalten Lösungen werden vermischt, indem die Eisenalaunlösung in die Hämatoxylinlösung unter stetem Umrühren gegossen wird. Die Oxydation geht in der Kälte allmählich vor sich, die Farbe wird erst braun, dann blau, dann dunkelviolett; man erhitzt allmählich zum Kochen, um die Reaktion zu beschleunigen. Das Erhitzen nehme man in einer Porzellanschale oder in einem Kolben oder Becherglase vor, eventuell in dem Sandbade, man rühre nur mäßig um, damit die Luftoxydation nicht unkontrollierbar groß werde, wodurch die Farbe der Lösung olivengrün wird; wie man die zuweit gegangene Oxydation redressieren kann, darüber später.

Es bildet sich so zuerst das Hämateïn, hernach die höheren Oxydationsprodukte, und da gleichzeitig Lackbildung eintritt, ist in kurzer Zeit die Reaktion sicher beendigt; man läßt nur kurze Zeit ($^1/_2$ bis 1 Min.) sieden und hernach erkalten. Wünscht man das gebildete Ferrosulfat als Ferroammoniumsulfat in der Lösung zu haben, füge man 1·40 g Ammoniumsulfat hinzu, wodurch die nachfolgende Oxydation des Ferrosulfats in Ferrisulfat an der Luft nicht so rasch geht. —

Die Farblösung soll eine dunkelbraune[1] Farbe

[1]) Ist die Farbe versehentlich durch zu langes Kochen an der Luft zu olivengrün geworden (Gegenwart von Ferrisalzen), füge man der erhitzten Lösung tropfenweise 10 Prozent Oxalsäure zu unter Umrühren, bis die Lösung den richtigen braunen Farbton erhalten hat (es ist nicht oxalsaures Eisenoxydul), gleichzeitig wird dann der Niederschlag zum größten Teil aufgelöst worden sein.

haben, sauer reagieren und die größte Menge des gebildeten Eisentrioxyhämateïnlacks in Lösung halten.

Ein geringerer Teil des Farbstoffes ist nicht aufgelöst und in der folgenden Zeit fallen auch immer kleine Mengen aus. Ich habe gefunden, daß dieser Überschuß des Farbstoffes wichtig ist, die Farblösung färbt so besser, als wenn man z. B. durch Zusatz von Schwefelsäure die ganze Lackmenge in Lösung halten würde. In der Wärme löst sich der Niederschlag teilweise wieder auf, welches Verhalten man gelegentlich benutzen kann, um intensiver zu färben. Fügt man der Lösung etwas Alkohol 10 bis 20 bis 30 cc hinzu, so bildet sich mit der Zeit etwas Aldehyd, und dies, ebenso wie der Alkohol, verlangsamt die Luftoxydation; gewöhnlich pflege ich es nicht zu tun.

Nimmt man wesentlich mehr Eisenalaun, so erhält man dunkelolivengrüne Lösungen, welche sich ziemlich klar halten, wenigstens nicht so viel absetzen. Eine solche Lösung enthält z. B.:

13 g Eisenalaun,
200 g destilliertes Wasser,
1 g Hämatoxylin.

Sie färbt auch ganz brauchbar, aber lange nicht so gut wie die Lösungen, welche den dunkelbraunen Ton zeigen. Außer dem hier angegebenen habe ich systematisch viele andere aus den chemischen Verhältnissen sich ergebenden Kombinationen versucht, auch solche mit relativ mehr Hämatoxylin; für einige Zwecke sind diese mit viel Hämatoxylin intensiv diffus färbende Lösungen ganz wertvoll, aber ich führe sie für den allgemeinen Gebrauch nicht an.

* * *

Die empfohlene Farblösung ist gut haltbar,[1] — mehrere Monate. Ein Bodensatz schadet wie gesagt gar nicht, aber vor dem Gebrauche

[1]) Obwohl die Farblösung sehr leicht herzustellen ist, und die Erzielung der besten Farbwirkung immer das Hauptaugenmerk, die größere Haltbarkeit nur eine Nebenbedingung sein soll, will ich doch nicht unterlassen, eine theoretisch ganz interessante Regenerationsmethode der Farblösung zu beschreiben. Wenn die Farblösung viel Bodensatz abgesetzt hat, und wenn die Farbwirkung bedeutend langsamer und schwächer wird (z. B. nach einigen Monaten), beruht das auf einer durch die Luft bewirkten Oxydation des Ferrosalzes in Ferrisalz. Man schütte dann das Ganze in eine Porzellanschale, erwärme, und füge jetzt tropfenweise ein wenig 10prozentige Oxalsäure hinzu unter ständigem Umrühren;

filtriere man immer, sie setzt dann selbst bei der Färbung in Cuvetten in 24 Stunden keinen Farbstoffniederschlag ab. Aufbewahrt werde sie aber immer am besten über einem Überschuß des Farblackes und gut verschlossen.

Die Farblösung läßt sich sehr vielseitig verwenden. Besonders schön ist die tiefschwarze Kern-(Chromatin-)färbung, aber auch die scharfe Darstellung mancher Plasmastrukturen (des Trophospongium z. B.), der Kittleisten, Bürstensäume etc. ist vorzüglich.

Es ist wesentlich eine Schnittfärbung, sie geht gewöhnlich auch in der Kälte sehr schnell vor sich. Man kann kurz, Minuten, oder länger, Stunden, bis 24 Stunden färben; in letzterem Falle wird sehr stark überfärbt, aber nicht alle Elemente gleichstark (so daß ich gelegentlich gar nicht die (tagelange) Färbung habe differenzieren brauchen), hernach kann man in der üblichen Weise differenzieren, am besten mittelst verdünnter Säuren (Schwefelsäure, Essigsäure-Benda).

Gewöhnlich genügt die kurze Färbung ohne nachträgliche Differenzierung. Zweckmäßig ist es dann oft, die Schnitte in der Farbflüssigkeit kurz zu erwärmen (bis 40 oder 50°); gutfixiertes Material, gut aufgeklebt, verträgt in den meisten Fällen ohne den geringsten Schaden eine etwas höhere kurzdauernde Erwärmung, wie ich vielfach beobachtet habe. Nach der Färbung wird in destilliertem Wasser abgespült und ausgewaschen, nach Belieben, 5 bis 10 Minuten, nachher wie gewöhnlich in Leitungswasser ausgewaschen und dann, wie üblich, in Balsam übergeführt. Gewöhnlich ist auch nach dieser kurzen Färbung die Differenzierung der Schnitte und die Nuancierung eine vorzügliche. Auch die Centrosomen lassen sich durch diese Farblösung darstellen, doch bekommt man sie so nicht elektiv isoliert gefärbt. Wünscht man sie besonders darzustellen, so verfahre man entweder nach der Heidenhainschen oder Bendaschen Methode, oder man überfärbe in meiner Farblösung stundenlang (eventuell 24 Stunden) und differenziere nachher wie allgemein üblich.

* * *

sobald alles Ferrisulfat durch die Oxalsäure in Ferrosulfat wieder reduziert worden ist, ist der Bodensatz fast wieder aufgelöst, die Farbe der Lösung ist tief kaffeebraun geworden und sie färbt jetzt wieder kräftig und gut, anscheinend ein bißchen brauner als ursprünglich, aber durch Abspülung der Schnitte mit destilliertem Wasser (und nachher Leitungswasser) wird alles wieder schwarz im Ton.

Die Färbung mittelst dieses Eisenhämateïns läßt sich sehr wohl mit den meisten anderen Färbungen kombinieren. Die Kernfärbung ist sehr resistent, verträgt z. B. Säurefuchsin-Pikrin (nach meiner Methode) etc. anstandslos, natürlich auch Eosin, Erythrosin, Lichtgrün etc.

Wünscht man mehr reine Kernfärbung oder nur eine solche, so setze man bestimmte kleine Quantitäten freier Schwefelsäure zu. Folgende Mischungen kann ich empfehlen:

A. Eisenhämateïnlösung . . . . 4 cc
1 Prozent Schwefelsäure . . . . 1 „
also ein Zusatz von $2^0/_{00}$ H_2SO_4.

Man erhält so weniger Plasmafärbung, doch gleich intensive und scharfe Kernfärbung. Noch mehr isolierte Kernfärbung gibt folgende Mischung:

B. Eisenhämateïnlösung . . . . 4 cc
1 Prozent Schwefelsäure . . . . 2 „
(ca. $3{\cdot}3^0/_{00}$ H_2SO_4).

Man färbt am schnellsten, wenn man die Farblösung erwärmt; durch Behandlung mit dünner, 2 bis 3 pro Mille Schwefelsäure läßt sich jeder Grad von isolierter Kernfärbung erhalten.

In den meisten Fällen ziehe ich die Hauptfärbung allein mit ihren reichen Nuancierungen der reinen Kernfärbung absolut vor.

Auch als gewöhnliche Arbeitsmethode ist sie ihrer Leichtigkeit und Haltbarkeit und sonstigen guten Eigenschaften wegen aufs wärmste zu empfehlen.

Detaillierte Angaben über die Anwendung auf verschiedenes Material, bei verschiedener Fixierung etc. zu machen, halte ich für überflüssig, doch besonders hervorheben will ich, daß auch sonst schwierig färbbares Material damit oft gut gefärbt werden kann.

* * *

Über die chemischen Vorgänge bei der Bereitung dieser Eisenhämateïnfarblösung habe ich schon oben einige Angaben gemacht. Um Genaueres darüber zu erfahren, habe ich systematisch viele quantitative Versuche angestellt. Die wichtigsten Resultate werde ich hier kurz mitteilen.

Ich halte mich aber nur an die gröberen chemischen Verhältnisse, die gefundenen Resultate gelten in dieser Beziehung auch für andere analoge Eisenverbindungen als den Eisenalaun.

Da ich nicht in der Lage war, Elementaranalysen der verschiedenen Lacke zu machen, griff ich zur Untersuchung der Oxydationsprodukte des Hämateïns mittels der stufenweisen Oxydation. Ich behandelte eine abgewogene Menge Hämatoxylin (resp. Hämateïn) mit bestimmten Mengen von Ferrisalz und oxydierte vorsichtig so weit (eventuell in der Wärme), bis sich kein Ferrisalz mit der Rhodankaliumreaktion in der wässerigen Lösung mehr nachweisen ließ. Die Lösung enthielt dann nur Ferrosalze und die freigewordene Schwefelsäure (siehe die Oxydationsgleichung oben), und mit den also gewonnenen Lösungen von bestimmter Zusammensetzung wurden Probefärbungen auf gleichartigem Material gemacht. Ich betrachte vorläufig die Sache so, als ob ich mit jedem disponiblen Sauerstoffatom zwei der disponiblen Wasserstoffatome des Hämatoxylins resp. Hämateïns oxydiere, und diese hypothetischen Oxydationsstufen benenne ich einfach so:

Hämatoxylin ÷ H_2 = Hämateïn.
Hämateïn ÷ H_2 = Dioxyhämateïn.
Hämateïn ÷ H_3 = Trioxyhämateïn.
Hämateïn ÷ H_4 = Tetraoxyhämateïn etc.

Mit der fortschreitenden Oxydation des Hämateïns stellten sich gesetzmäßige Farbenänderungen[1] ein, welche sich in analoger Weise und noch deutlicher bei den Chromlacken[2] zeigen; darüber später.

Allein maßgebend ist hier die Oxydationsstufe des Hämatoxylins: man erhält nämlich ganz analoge Resultate, wenn man das Hämatoxylin in Lösung mit einer berechneten Menge Schwefelsäure (um neutrale Salze zu bilden) und mit anderen Oxydationsmitteln quantitativ oxydiert und dann mittels Ferrosalzen (Eisensulfat, Mohrs Salz) oder mittels Chromidsalzen die Farblacke bildet.

Um ein Gramm[3] Hämatoxylin in Hämateïn zu oxydieren, braucht man 2·71 g Ferriammoniumsulfat; damit werden bekanntlich zwei Wasserstoffatome wegoxydiert, für jedes folgende Wasserstoffatom braucht man 1·355 g Eisenalaun.

Zur Auflösung der Substanzen wird nur ausgekochtes, sauerstoff-

---

[1]) In der technischen Färberei ist es eine altbekannte Tatsache, daß mit steigender Oxydation an der Luft die Eisenhämatoxylinlacke erst bläulich, dann schwarz und zuletzt bräunlich und minderwertig werden.

[2]) Auch bei Tonerdelacken.

[3]) Die Gewichtsmengen sind mit einer Genauigkeit von ± 2·5 mg angegeben, was hier völlig genügt.

freies, destilliertes Wasser benutzt. Es läßt sich zeigen, daß Hämateïn in schwach saurer Lösung mittels also bestimmter Mengen Kaliumpermanganats (oder titrierten Wasserstoffsuperoxyd) oxydiert, in diese höheren Oxydationsprodukte übergeführt wird[1]; bringt man dann solche höher oxydierte Lösungen (in sauerstofffreiem Wasser) mit Ferrosalzen zusammen, so werden sie nicht reduziert, so daß sich kein Ferrisalz bildet. Es läßt sich also bestimmt schließen, daß, wenn (bei der Oxydation des Hämatoxylins mittels Ferrisalzen) bei der Rhodankaliumreaktion kein Ferrisalz mehr nachgewiesen werden kann, dasselbe all seinen disponiblen Sauerstoff an das Hämatoxylin abgegeben hat, wenigstens werde ich dies so lange annehmen, bis ich widerlegt werde.

Von den vielen Versuchen führe ich hier einige an, wobei man mir eine kleine Wiederholung des Ferrohämateïns gestatte.

1. Ferrohämateïn (cf. auch oben) = Hämatoxylin $\div$ H_2.

1·355 g Eisenalaun werden in 40 cc Wasser, und 0·50 g Hämatoxylin in 10 g Wasser gelöst; beide Lösungen vorsichtig vermischt, geben folgende Oxydationsphasen. Zuerst bildet sich Hämateïn, welches die Lösung tiefbraun färbt, aber schnell fängt sie an violett zu werden, indem nun die Ferrolackbildung anfängt und gleichzeitig ein Teil des gebildeten Lackes als ein schwarzer amorpher Niederschlag sich absetzt, auch an der Oberfläche zeigt sich eine glänzende Haut. Die Lösung färbt jetzt sogleich, wie oben angegeben, Kerne schwarz bis schwarzviolett, Plasma mehr violett. Die Färbung wird durch Ferrosulfat nicht verändert. Fügt man 10 g Ferroammoniumsulfat in 50 g sauerstofffreiem Wasser hinzu, erhält man eine dunkelviolette Lösung, indem der Niederschlag darin größtenteils aufgelöst wird. In dieser Lösung läßt sich keine Spur von Ferrisalzen nachweisen; sie färbt wie oben angegeben.

Wir haben also hier eine Verbindung (Lack) des gebildeten Hämateïns mit dem Ferrosalz, welche schwarzviolett ist. Es erhellt hieraus, daß Ferrohämateïn die eigentliche Farbe ist und nicht ein Ferrihämateïn. Und ich habe die besten Gründe, anzunehmen, daß die Ferrolacke hier die eigentümlichen, wertvollen Farblacke sind,

[1]) Die Reaktion muß ganz abgelaufen sein, eventuell durch Erhitzen der Lösung.

daß dagegen die Lacke, welche Ferriverbindungen enthalten, minderwertige Farben sind. Das geht auch aus den Prozessen der technischen Färberei hervor.

Bestätigt wird diese Ansicht durch das Verhalten der Ferrolacke der höheren Oxydationsstufen.

Nehmen wir einstweilen meine willkürliche vorläufige Nomenklatur an, und bezeichnen wir ein Hämateïn, welches mit 1 Atom Sauerstoff weiter oxydiert wird (also möglicherweise 2 Atome Wasserstoff verliert), als Dioxyhämateïn, so können wir eine solche Lösung folgendermaßen bereiten.

2. Ferrodioxyhämateïn.

a) 1 g Hämatoxylin in 50 g Wasser gelöst;
b) 5·42 g Eisenalaun in 100 g Wasser gelöst.

Die Lösungen werden gut abgekühlt, eventuell zur Zurückdrängung der Hydrolyse in der Eisenalaunlösung wird derselben ca. 0·8 g Schwefelsäure[1] zugefügt. Die Eisenalaunlösung wird in die Hämatoxylinlösung unter stetem Umrühren gegossen. Die Lösung färbt sich zuerst vorübergehend braun (Bildung von gelöstem Hämateïn!), hiernach dunkelviolett, wie oben beim Ferrohämateïn.

Es lassen sich in diesem Stadium[2] noch reichlich Ferrisalze nachweisen, und erst nach und nach in der Kälte geht die Oxydation in Dioxyhämateïn (Lack) vor sich.

Durch Probefärbung in diesem Stadium erhält man immer einen mehr violetten Ton. Erhitzt man aber, geht die Reaktion weit schneller, und nach kurzem Kochen ist die Oxydation in Dioxyhämateïn vollständig, wenn sich kein Ferrisalz mehr nachweisen läßt.[3] (NB. Verwendung von sauerstofffreiem Wasser. Die Oxydation an der Luft kommt beim kurzen Kochen in den Kolben nicht in Betracht.)

---

[1]) Also z. B. 8 cc von 10 Proz. H_2SO_4 Lösung; man kann dasselbe unterlassen oder die Schwefelsäure der Hämatoxylinlösung vorher zufügen; das ändert an dem Resultate nichts. Nur hält sich der Lack viel reichlicher in der Lösung mit mehr Schwefelsäure aufgelöst.

[2]) Auch Probefärbungen (kalt!) wurden gemacht, wir haben hier noch mit dem Ferrohämateïn zu tun.

[3]) Sind die zwei Lösungen vor dem Vermischen nicht genügend abgekühlt, bekommt man sofort Lackbildung und Oxydation zu Dioxyhämateïn, so daß man das Stadium der braunen Hämateïnfarbe und die violette Ferrohämateïnlackbildung gewöhnlich nicht sieht. Für die Praxis ist dies natürlich gleichgültig.

Die Lösung ist dunkelbraun von dem richtigen Ton und enthält gewöhnlich noch etwas ungelösten Lack (so daß man vor dem Gebrauche filtrieren muß), welchen man eventuell durch etwas Schwefelsäurezusatz auflösen kann.

Die Lösung enthält nur Ferosalze. Die Probefärbung (sauerstofffreies Wasser) gibt tiefschwarze Kerne, Plasma ebenso weit schwärzer als bei Ferrohämateïn, aber doch immer mehr violett als die folgende Oxydationsstufe. —

Wünscht man alles bei der Reaktion auftretende Ferrosulfat in das haltbarere Mohrsche Salz zu überführen, so setze man vor oder nach der Reaktion die berechnete Menge Ammoniumsulfat hinzu (bei den angegebenen Mengen also: 0·73 g $(NH_4)_2SO_4$), auch scheint hierdurch etwas mehr Lack in Lösung zu gehen, die Farbe der Lösung wird brauner. —

Eine rein schwarze, resp. grauschwarze Färbung des Plasmas erhält man nur an einer noch höheren Oxydationsstufe. Oxydiert man im Sinne des oben Gesagten fünf Wasserstoffatome des Hämatoxylins — also drei des Hämateïns, so erhält man

3. das Trioxyhämateïn.

Diese Oxydationsstufe ist von mir als die zweckmäßigste empfohlen; die oben angegebene „Eisenhämateïnlösung“ enthält diese Stufe, und zwar so, daß kleine Abweichungen von den genauen Quantitäten in der Zusammensetzung durchaus nicht schaden.[1] Man bildet sie folgendermaßen:

1 g Hämatoxylin in 50 g Wasser, 6·78 g Eisenalaun in 100 g Wasser gelöst (dazu 0·6 bis 0·8 g Schwefelsäure). Die Lösungen werden wie oben vermischt, man erhitzt, bis die Proben kein Ferrisalz mehr bei Rhodankalium zeigen, hiernach kühlt man ab und fügt 0·93 g Ammoniumsulfat hinzu. Die Lösung enthält nun Trioxyhämateïnferrolack, Ferrosalze und freie Schwefelsäure.

Sie färbt sehr intensiv, ganz analog der empfohlenen Lösung und absolut schwärzer als das Dioxyhämateïn.

* * *

[1]) Da die nächsten höheren Oxydationsstufen auch schwarz färben, obwohl je höher um so minder kräftig, sieht man, daß das Färbvermögen der angegebenen Lösung vorerst nicht besonders von der unvermeidlichen nachträglichen Luftoxydation beeinflußt wird, je kälter um so haltbarer, je mehr in der Flasche ist, ebenso.

Höher mit der Oxydation zu gehen, hat keinen Vorteil. Ich habe sowohl die Tetraoxy-, Pentaoxy- und Hexaoxyhämateïneisenlacke geprüft. Sehr brauchbar ist noch das Tetraoxyhämateïn, es hat aber keinen Vorteil vor dem Trioxyhämateïn. Mit noch höherer Oxydation wird die Färbekraft geringer und die Töne minderwertig, oliven, bräunlich etc.

Der in der Lösung gebildete Eisenlack wird, wie gesagt, zum Teil von der bei der Oxydation des Hämatoxylins freigewordenen Schwefelsäure in Lösung gehalten und extra Schwefelsäurezusatz [1] löst den Niederschlag mehr und mehr auf, über eine gewisse Grenze hinaus erhält man dann, wie oben gesagt, mehr reine Kernfärbung. Nicht allein in der also besprochenen Weise lassen sich diese Verhältnisse dokumentieren. Ich habe beispielsweise auch das Hämatoxylin gesondert in Lösung in die verschiedenen Oxydationsstufen überführt, [2] und hernach die Lösung mit einer entsprechenden Menge Ferrosalz vermischt und eventuell die angegebene Menge Schwefelsäure zugefügt. Man erhält bei diesem Verfahren ganz dieselben Resultate wie mit Eisenalaunoxydation.

Sehr schön beobachtet man die Lackbildung, wenn man eine Lösung von Dioxy- oder Trioxyhämateïn in Wasser bereitet und dann in vollgefüllter, gutverschlossener Flasche aufbewahrt (so daß nachträgliche Luftoxydation ausgeschlossen ist). Nach einigen Tagen mischt man die Lösung mit einer entsprechenden Ferrosalzlösung. Sind die Lösungen kalt, tritt die Lackbildung oft sehr langsam ein, so daß man energisch kochen muß, um die Lacke völlig zu bilden. Weit leichter zu beobachten als beim Eisenhämateïn ist dies Verhalten bei den Chromalaunhämateïnen und auch bei den Thonerdelacken, sowie bei Chromcochenillen.

* * *

Fasse ich meine Ergebnisse zusammen, die auch zum Teil in noch auffälligerer Weise für Chromalaun- und Thonerdealaunlacke gelten, sind es folgende:

---

[1]) Es ist vorteilhafter die vermehrte Lösung des Lackes durch einen Schwefelsäurezusatz zu erreichen als durch einen größeren Gehalt an Eisenalaun, wodurch die Färbungen, wie leicht verständlich, ungünstig beeinflußt werden.

[2]) Mit den berechneten Mengen von Kaliumpermanganat in saurer Lösung, oder mit andern Oxydationsmitteln.

Hämatoxylin bildet schwach gefärbte oder farblose Lacke. Hämateïn bildet die für die respektiven Metalle blauesten Lacke.

Mit zunehmender Oxydation werden die Nuancen immer dunkler, resp. violett oder schwarzblau, schwarz, zuletzt bräunlich.

Hämateïnferrolack ist dunkelviolett. Dioxyhämateïn- und Trioxyhämateïn- sowie Tetraoxyhämateïn-Eisenlack ist schwarz, hernach bekommen die Farben einen bräunlicheren Stich.

Die für die Mikrotechnik wertvollen Eisenhämateïne müssen hier als Ferroverbindungen[1] aufgefaßt werden. Ferriverbindungen sind minderwertig.

Zuletzt mag nicht unerwähnt bleiben, daß der Schleim oft eine Metachromasie mit purpurviolettem Ton zeigt bei der Färbung mit Eisendioxy- und Trioxyhämateïn. Die Metachromasie zeigt sich am ausgesprochensten im Wasser, wird aber durch die Alkoholbehandlung größtenteils zerstört und ist praktisch ohne Belang. Auch bei den Chromalaunhämateïnen findet man ähnliche Verhältnisse.

Für Stückfärbung habe ich diese Eisenhämateïne nicht empfohlen, sie werden sich aber gewiß bei passendem Schwefelsäurezusatz sehr wohl verwenden lassen können. Je nach Fixation und Material und den gewünschten Resultaten (reine Kernfärbung oder auch diffuse Färbung) muß der Schwefelsäurezusatz ein leicht auszuprüfender sein (s. oben).

Zum Auswaschen muß am besten sauerstofffreies, ausgekochtes Wasser verwendet werden, ebenso fülle man die Gläser ganz voll, um Luftoxydation zu vermeiden, oder absorbiere den Sauerstoff durch einen mit Pyrogalluslösung befeuchteten Wattebausch, der durch eine Zwischenlage von hydrophober Watte am Heruntergleiten verhindert wird.

II. Die Chromhämateïne.

Die Chromlacke des Hämatoxylins oder richtiger der Hämateïne und Oxyhämateïne sind technisch sehr wichtig, weil sie so widerstandsfähig sind. In der Mikrotechnik spielen sie (abgesehen von den Färbungen des Nervensystems) wenigstens keine so große Rolle, wie sie verdienen.

---

[1]) d. h. sie enthalten das zweiwertige Eisenatom $\overset{II}{Fe}$.

Ihre bekannteste bewußte Anwendung ist die R. HEIDENHAINsche Chromhämatoxylinfärbung. Die nicht wenigen Rezepte hierzu brauche ich hier nicht zu wiederholen. Beizung der Gewebsstücke (oder Schnitte) mit Lösung von Chromaten oder Bichromaten und darauffolgende Behandlung mit Hämatoxylinlösungen (auch umgekehrt) ist das Wesentlichste.

Dagegen ist die Anwendung von Chromidsalzen[1] meines Wissens nicht gebräuchlich, — z. B. Chromalaun oder Chromisulfat in Verbindung mit Hämatoxylin analog dem Tonerdealaunhämatoxylin wird nicht angewandt.

Tatsächlich gibt auch ein analog konstruiertes Chromalaunhämatoxylin zunächst ganz schlechte oder minderwertige Resultate.

Trotzdem ist es mir durch einfache Mittel gelungen, Chromalaunhämateïne von vorzüglicher Brauchbarkeit und Färbekraft herzustellen. Die Verwendbarkeit derselben wird sehr allgemein werden können, weil sie vielfach weit besser als die gewöhnlichen Tonerdehämateïne wirken und weit widerstandsfähiger sind.

* * *

Zunächst nur ein paar orientierende Bemerkungen über die Chromlacke und Chrombeizen.

Es ist bekannt, daß Chromidoxyhydrate oder alle Chromidsalze (z.B. Chromidsulfat, Chromalaun) die relativ stabilsten Chromverbindungen sind. Durch viele Reduktionsprozesse erhält man aus Chromsäure, Bichromsäure und deren Verbindungen zuletzt Chromoxyd- (Chromid-) verbindungen. Fixiert man beispielsweise in der Mikrotechnik die Gewebe in Chromsäure, Chromaten oder Bichromaten, erhält man zuerst gelbliche Verbindungen dieser Oxydationsstufe, hernach tritt in den Geweben eine braune Verbindung, welche größtenteils Chromdioxyd (CrO_2) oder Chromichromat ($Cr_2O_3 \cdot CrO_3$) ist, auf. Dieselbe bildet sich auch bei Belichtung von „Chromgelatine" in der Photographie, wodurch die Gelatine unlöslich wird, ferner zuerst durch Reduktion von Chromaten, besonders Bichromaten (MÜLLERS Flüssigkeit etc.) in den Geweben (und auch mit Alkohol im Lichte als ein brauner amorpher Niederschlag), welche durch langes Auswässern weiter zersetzt wird. Es ist klar, daß diese Verbindung, welche noch imstande ist, Sauerstoff abzugeben (und dabei in Chromoxyd über-

[1]) Abgesehen von den WEIGERTschen Gliafärbungen als Beize.

geht), auch Hämatoxylin in Hämateïn und Oxyhämateïn zu oxydieren vermag. Auf diesem Verhalten beruht die gewöhnliche schwarze oder blaue „Chromhämatoxylin“-Stückfärbung.

Nach genügend langer Zeit und besonders beim Verweilen des chromfixierten Gewebes in Alkohol geht die Reduktion des Chromichromats weiter, und zuletzt ist alles in Chromoxyd übergeführt, wir haben dann die bekannten grünen resp. graugrün gefärbten Gewebsstücke, in welchen jetzt alles Chrom als Chromoxyd-(Chromid-) verbindungen gebunden ist. Solches Material vermag nicht mehr Hämatoxylin zu oxydieren.

Genauer auf die möglichen Formen einzugehen, in denen die Chromidverbindungen vorkommen könnten, halte ich für überflüssig; jeder einigermaßen chemisch Geschulte weiß, daß die Oxydationsstufe dem Chromoxyd entspricht, aber zugleich, daß wahrscheinlich sehr komplexe Verbindungen vorliegen, man mag dieselben in rein quantitativer Hinsicht wohl größtenteils als basische Verbindungen — Salze, Hydroxysalze — auffassen, aber molekular ist die Sache so einfach nicht. Ich brauche nur auf das höchst eigentümliche Verhalten der grünen Chromisulfatlösungen hinzuweisen oder auf die sehr verschiedenen Löslichkeitsverhältnisse des Chromidhydroxyd.[1]

Mikrotechnisch wichtig ist die Tatsache, daß „gut fixiertes Gewebe“ sich vorzüglich färbt; und das sind eben solche Gewebe, in welchen bei genügend langer Einwirkung der Chromsalze sich Chromid-Chromate oder basische Chromidverbindungen genug gebildet haben, worauf die Farbstoffe sich fixieren können. Die gute Färbbarkeit der Formol-Bichromatmischungen beruht ebenfalls auf der in gleichem Sinne, aber schneller sich zeigenden Reduktionswirkung des Formaldehyds auf die Bichromate.

Verwendet man Tonerdealaunhämateïne (z. B. die von mir 1895 angegebene voll oxydierte Lösung), so färben sich die auf diese Weise gut chromierten Gewebe besonders kräftig.

Ebenso werden die meisten Mikroskopiker erfahren haben, daß solche Präparate besonders haltbar sind. Mir wenigstens ist immer die weit größere Widerstandsfähigkeit der gleichen Präparate (auch gegen Licht) aufgefallen.

Diese Sache verhält sich, wie ich aus meinen Untersuchungen entnehme, sehr wahrscheinlich so, daß sich das Hämateïn, der Ton-

[1]) Auf die wichtige Rolle, welche das Licht bei den Beizprozessen mit Chromverbindungen spielt, brauche ich nur hinzuweisen.

erdelack zum Teil, mit dem Chromoxyd des fixierten Gewebes verbindet, so daß wir nicht reinen Tonerdehämateïnlack, sondern in verschiedenem Grade Chromoxydhämateïnlack gleichzeitig erhalten; und die Chromhämateïnlacke sind weit widerstandsfähiger und auch dunkler als die Tonerdelacke.

* * *

Als Ausgangspunkt für die Chromhämateïne wählte ich den Chromalaun: $Cr_2(SO_4)_3, K_2SO_4 + 24 H_2O$, der mir die meisten Vorteile zu bieten scheint; erstens weil er, wie der Versuch lehrt, sich relativ leicht mit den Geweben vereinigt (energisch beizt), zweitens mit den Oxydationsprodukten des Hämateïns intensiv gefärbte Lacke von hohem Färbevermögen bildet.

Durch Kochen geht bekanntlich das violette Salz in das grüne über, und ich habe prinzipiell immer die grüne Modifikation verwendet, indem ich die Lösungen kochte. Übrigens ist die Lösung immer etwas hydrolysiert, was für die Beizung und Färbung wichtig ist. Bei genügend langer Einwirkung werden die Gewebe stark gebeizt (besonders bei 30 bis 35 Grad), darüber später. Wünscht man stärkeres Beizen, verwendet man am besten Lösungen von sogenannten basischen Chromisulfaten.

Man erhält z. B. ein Salz: $Cr_4(SO_4)_3(OH)_6$, wenn die Lösung von Chromalaun mit frischgefälltem Chromoxydhydrat behandelt wird.

Auch mittels Ammoniumhydrat oder kohlensauren Alkalien erhält man ein basisches Salz, $Cr_2SO_4(OH)_4$. Es bildet sich zuerst ein Niederschlag (von Chromihydrat), welcher sich wieder auflöst unter Bildung von „basischen"[1] Salzen. Solche Lösungen halten sich bei passender Zusammensetzung sehr lange und vertragen auch das Kochen, ohne daß sich die basischen Salze ausscheiden.

Um eine gut färbende Chromalaunhämateïnlösung herzustellen, habe ich gefunden, daß die Lösung am besten etwas (nicht besonders viel) basische Chromverbindungen enthalten soll, und daß sich die höheren Oxydationsprodukte des Hämateïns vorteilhafter als das Hämateïn selbst anwenden lassen.

[1]) Das wenigstens bei der Ammoniakbehandlung sich sehr komplizierte Verbindungen bilden, ist bekannt; für unsere Zwecke dürfen wir aber die Verhältnisse zunächst so auffassen, als ob einfach basische Verbindungen wirklich in der Lösung wären.

Hämatoxylin und Chromalaun geben keine Farblösung; das tun erst die Oxydationsprodukte von dem Hämateïn aufwärts (cf. früher). Zur Oxydation des Hämatoxylins kann man, wie ich andernorts besprochen habe, viele verschiedene Oxydationsmittel anwenden, sobald man bewußt quantitativ verfährt, wie in der Mikrotechnik[1] des Hämatoxylins ich es 1895 zuerst empfohlen und getan habe.

Beispielsweise kann man die berechnete Menge übermangansauren Kalis verwenden, aber am besten gebraucht man hier das Kaliumbichromat in der berechneten Menge.

Also wird eine bestimmte Menge Chromalaun in Wasser gelöst und gekocht, bis die Lösung ganz grün wird, hiernach löst man das Hämatoxylin entweder direkt in der warmen Chromalaunlösung, was sehr schnell geht, oder das Hämatoxylin wird gesondert in destilliertem Wasser gelöst und der Chromalaunlösung zugefügt. Man läßt erkalten[2] und setzt hiernach die berechnete Menge Bichromas kalicus (gelöst) hinzu unter stetem Umrühren.

Die Oxydation beginnt sogleich, es ist aber notwendig zum Kochen zu erwärmen, um die Oxydation schnell durchzuführen und besonders um die Chromlackbildung zu beschleunigen. Es wird das Bichromat durch das Hämatoxylin in Chromidverbindungen reduziert, indem es seinen disponiblen Sauerstoff abgibt. Die Reaktion, welche in saurer Lösung verläuft, ist bekanntlich folgende:

$$\underbrace{K_2 Cr_2 O_7}_{\text{Kaliumbichromat}} + 4\,H_2 SO_4 = \underbrace{K_2 SO_4,\ Cr_2 (SO_4)_3}_{\text{Chromalaun}} + 4\,H_2O + O_3.$$

Die Schwefelsäure wird von dem vorhandenen Chromalaun geliefert, d. h. es bilden sich eben durch die Oxydation des Hämatoxylins die für die Färbekraft der Lösung wichtigen basischen Salze. Ganz ähnlich basische Salze bilden wird das übermangansaure Kali, wie ich 1895 im Zoologischen Anzeiger No. 473 gezeigt habe, und dasselbe gilt von andern ähnlichen Sauerstoffspendern.

Verhindert man durch einen berechneten Schwefelsäurezusatz die Bildung von basischen Salzen, so ist die Lösung zwar selbst gleich intensiv gefärbt, aber sie färbt die Gewebe schlecht oder gar nicht.

[1]) Zool. Anz. No. 473, 1895.

[2]) Indem man die Schale oder den Kolben in kaltes Wasser stellt.

Dadurch ist uns ein ausgezeichnetes Mittel in die Hände gegeben, die Färbung zu modifizieren. Ohne Säurezusatz färbt das Chromalaunhämateïn die Kerne intensiv, und außerdem sehr stark auch die Zwischensubstanzen und das Plasma (also mehr diffus). Bei geeignetem (s. unten) Schwefelsäurezusatz kann man aber z. B. eine sehr intensiv reine Kernfärbung erzielen. Die Chromalaunlösung ist immer etwas hydrolysiert, sie enthält, um rein quantitativ zu reden, gelöstes Chromhydroxyd[1] und etwas hydrolytisch abgespaltene Schwefelsäure. Nun ist aber die Beizwirkung (also auch die Fixierung des Farbstoffes auf dem Gewebe) eng mit dem Vorhandensein von disponiblem Chromhydroxyd verknüpft. Drängt man also die Hydrolyse durch Schwefelsäurezusatz zurück, wird die Färbung auch zurückgehen, die Verbindung des Farblackes mit dem Gewebe wird dissoziiert nach dem Gesetze der Massenwirkung;[2] zuerst natürlich in den lockeren Verbindungen, zuletzt in den Kernen. Es ergibt sich ferner hieraus, daß man durch geeignet gewählte Verhältnisse zwischen dem Farblack, der Chromalaunmenge und dem Schwefelsäurezusatz Stückfärbungen erhalten kann, wobei man fast beliebig lange die Färbung ausdehnen kann, ohne daß störende Überfärbung eintritt, es läßt sich eben dadurch der gewünschte Punkt der Färbung, wo die färbenden und entfärbenden Kräfte der Lösung im Gleichgewicht miteinander sind, im voraus genau bestimmen.

Ich habe das praktisch bestätigt gefunden. Da die Hydrolyse ebenso wie die Reaktionsgeschwindigkeit mit zunehmender Temperatur wächst, wird die Färbung der Gewebe ungemein durch Erwärmung beschleunigt. Daher ist Brütofentemperatur oft sehr geeignet und die meisten gut fixierten Gewebe vertragen allgemein ohne Schaden kürzere Temperatursteigerungen der Farblösung von 50 bis 60°, ja bisweilen noch höhere, wie ich vielfach konstatiert habe.

Ich hebe nochmals hervor, daß ganz wie hier auseinander gesetzt die Verhältnisse beim Eisenalaunhämateïn liegen, bei dem Tonerdealaunhämateïn, sowie bei dem später zu erwähnenden Manganhämateïn.

[1]) Daß die Verhältnisse aber molekulär weit komplizierter sind, ist oben gesagt.

[2]) Vgl. „Den Hyaline Bruskgrundsubst." 1900 und „Der Hyalinknorpel" I, Anat. Hefte, H. 83, 1905.

Es gelten ferner ähnliche Überlegungen für Eisenalauncochenille, Tonerdealauncochenille und Chromalauncochenille (resp. Karmin) etc.

* * *

Über die Oxydationsstufen des Hämatoxylins ist noch zu sprechen; ähnlich dem vorher beim Eisenalaunhämateïn Gesagten kann man außer dem Hämateïn auch die von mir provisorisch so genannten Oxyhämateïne verwenden. Es bestehen hier ja ganz gesetzmäßige Verhältnisse.[1]

Chromalaunhämateïn gibt eine rein himmelblaue Färbung.

Chromalaundioxyhämateïn gibt eine intensiv dunkelblaue, resp. schwarzblaue Färbung und ist für den allgemeinen Gebrauch am meisten zu empfehlen.

Noch mehr schwarzblau färbt Trioxyhämateïn.

Wünscht man ganz schwarze Färbungen (der Kerne z. B.), so verwende man Tetraoxy- oder Pentaoxyhämateïn. Bei noch höherer Oxydation verliert die Farbe an Kraft und wird mehr bräunlich.

Die Farblösungen lassen sich auch so herstellen, daß man das Hämatoxylin in wässeriger Lösung für sich oxydiert, z. B. mit Kaliumbichromat oder übermangansaurem Kali (s. später), die Lösung muß alsdann die berechneten Mengen Schwefelsäure enthalten, damit sich neutrales Mangansulfat bildet, resp. Chromidsulfat. Dann gieße man die kalte Chromalaunlösung und die Hämateïnlösung zusammen und erwärme bis zur Lackbildung. Um so gut färbende Lösungen daraus zu erhalten, muß man entsprechend dem oben Gesagten soviel Alkali oder frisch gefälltes Chromhydroxyd zu der kalten Lösung setzen, daß die der Hämateïnlösung extra zugefügte Schwefelsäure neutralisiert wird, d. h. daß die Farblösung genügend basische Salze enthält. —

Je frischer die Hämateïn- oder Oxyhämateïnlösungen bereitet

---

[1]) Siehe auch oben über die Nomenklatur: Hämateïn = Hämatoxylin $\div H_2$.

Werden in Hämateïn weitere 2 H oxydiert erhält man Dioxyhämateïn.
„ „ „ „ 3 H „ „ „ Trioxyhämateïn.
„ „ „ „ 4 H „ „ „ Tetraoxyhämateïn.
„ „ „ „ 5 H „ „ „ Pentaoxyhämateïn.
„ „ „ „ 6 H „ „ „ Hexaoxyhämateïn.

Diese Namen sind nur für die Beschreibung der bei der stufenweisen Oxydation erhaltenen Produkte rein provisorisch gewählt, sonst prätendieren sie nichts.

sind, um so schneller tritt die Lackbildung ein. Je höher das Hämateïn oxydiert ist, um so langsamer die Lackbildung.

Läßt man die wässerigen Hämateïn-, resp. Oxyhämateïnlösungen längere Zeit in ganz vollgefüllten Flaschen gut verschlossen stehen, so daß jede nachträgliche Oxydation ausgeschlossen ist, so erfolgt die Lackbildung um so schwieriger und langsamer, je älter die Lösung, so daß man gelegentlich sehr energisch kochen muß, damit sie eintritt. Vielleicht haben sich die Hämateïnmoleküle miteinander verkettet, polymerisiert, kondensiert, so daß diese Bindungen erst gesprengt werden müssen, ehe die Lackbildung eintreten kann, welche bei frischer Lösung durch keine solche Verkettungen verzögert wird. Auch bei Tonerdealaunlacken begegnet man den hier mitgeteilten Unregelmäßigkeiten bei Anwendung älterer Lösungen von Hämateïn.

Praktisch nehme ich immer die Oxydation des Hämatoxylins in der Chromalaunlösung vor, ebenso wie ich in der von mir 1895 angegebenen Tonerdealaunhämateïnlösung gemacht habe, ein Verfahren, das entschieden besser ist als das Hämateïn oder Hämateïnammoniak vorher darzustellen und nachträglich in Alaunlösung aufzulösen.[1] Man wird auch hier bei den verschiedenen Chromalaunhämateïnen und Oxyhämateïnen die zwei Prozesse auseinander zu halten haben (s. oben): 1) die Oxydation des Hämatoxylins, die relativ leicht vor sich geht, und 2) die Lackbildung zwischen dem Hämateïn, resp. den Oxyhämateïnen und dem Chromsalz.

Man arbeite, um dies wahrzunehmen, mit gut gekühlten Lösungen. Nach Zufügen des gelösten Bichromats zur Chromalaunhämatoxylinlösung (mit oder ohne Schwefelsäurezusatz) beobachtet man zunächst das Auftreten der braunen Farbe der Hämateïne resp. Oxyhämateïne.

---

[1]) Ganz neulich hat ja auch Paul Mayer sein älteres Verfahren verlassen und vollführt die Oxydation des Hämatoxylins in der kalten Alaunlösung, er gebraucht jodsaures Natrium als Oxydans; aber — was wichtig ist er verfährt jetzt ebenso, wie ich es 1895 zuerst empfohlen habe, und gebraucht die quantitativ nötige Menge Oxydans, um das Hämatoxylin in Hämateïn überzuführen. Wie ich im Jahre 1895 die berechnete, eben nötige Menge Kaliumpermanganat angab, um 1 g Hämatoxylin in der Alaunlösung in Hämateïn zu überführen und die Menge auf das gewöhnlich vorkommende tetragonale Hämatoxylin bezog, ebenso hat P. Mayer jetzt (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX, p. 409 ff.) zwei Quanta Natriumjodat angegeben, welche wie die Berechnung zeigt, einfach auf das rhombische und das tetragonale Hämatoxylin sich beziehen. Er hat sich also in der Hauptsache meinem vor 10 Jahren angegebenen Prinzip angeschlossen.

Erwärmt man, so tritt kurz oder lang, resp. erst beim Kochen die intensiv blaue, schwarzblaue, resp. schwarze Lackbildung ein. Am leichtesten geschieht die Lackbildung beim Hämateïn (nur kurzes Kochen, bisweilen schon in der Kälte); schon beim Oxyhämateïn muß man länger kochen, ehe die Lackbildung beendet ist, und beim Tetraoxy- und Pentaoxyhämateïn beobachtet man am deutlichsten die Oxydation getrennt von der Lackbildung. Selbst nach ein paar Minuten Kochen ist wohl die Oxydation des Hämatoxylins,[1] aber nicht die Lackbildung erfolgt, die Lösung färbt in diesem Zustande schlecht, in der Eigenfarbe der Oxyhämateïne bräunlich, oder schwach schmutzigviolett; erst wenn man mehrere Minuten kocht, bis die Lackbildung eintritt, erhält man die sattgefärbte Lacklösung. —

* * *

Die Reaktionsgleichungen, nach welchen die Oxydation mittels Kaliumchromats und Kaliumbichromats in saurer Lösung verläuft, sind der Hauptsache nach die folgenden:

Für Kaliumchromat (K_2CrO_4; Mol. = 194·4):

$$2\,(K_2CrO_4) + 5\,H_2SO_4 = 2\,K_2SO_4 + Cr_2(SO_4)_3 + 5\,H_2O + O_3.$$

Für Kaliumbichromat ($K_2Cr_2O_7$; Mol. = 294·5):

$$K_2Cr_2O_7 + 4\,H_2SO_4 = K_2SO_4,\ Cr_2(SO_4)_3 + 4\,H_2O + O_3.$$

Aus diesen Gleichungen berechnet man leicht die per 1 g Hämatoxylin nötige Menge Chromats, resp. Bichromats, um die erwünschten Oxydationsstufen des Hämatoxylins zu erhalten.

Wenn die Oxydation in der Chromalaunlösung vor sich geht, liefert diese die notwendige Schwefelsäure, resp. es bilden sich, wie oben angegeben, der Oxydationsmenge entsprechende Mengen basischer Salze. Wünscht man (quantitativ) die Bildung der neutralen Salze, so füge man der Chromalaunlösung vor oder nach der Oxydation des Farbstoffes soviel freie Säure (Schwefelsäure) hinzu, daß sie eben genügt zur (theoretischen) Bildung der neutralen Salze.

Wie man aus den Reaktionsgleichungen sieht, braucht Kaliummonochromat 1 Mol. Schwefelsäure mehr (5 Mol.), als das Bichromat

[1]) Vielleicht infolge Ringbildung, Kondensation etc. unter den Oxyhämateïnmolekülen; über die nicht wenigen, tatsächlich vorhandenen Möglichkeiten siehe die chemische Literatur über die Konstitution und den Abbau des Hämatoxylins und des Brasilins.

(4 Mol.) bei Abgabe gleicher Sauerstoffmengen, d. h. wird keine freie Schwefelsäure hinzugefügt, so bilden sich beim Monochromat entsprechend mehr basische Chromsalze als beim Bichromat. Auf diesen Verhältnissen dürfte es zum Teil beruhen, daß die Anwendung des Monochromates (gelb) bei der alten (R. HEIDENHAINschen) Chromhämatoxylinstückfärbung bevorzugt wird, während das Bichromat leichter überoxydiert. — der säurebindenden Wirkung des gebildeten neutralen $2 K_2 SO_4$ beim Monochromat nicht zu vergessen. Bei der Chromhämatoxylinstückfärbung nach APÁTHY sowie bei anderen, wo alkoholische Lösungen angewendet werden, geht im Dunklen und bei Zimmertemperatur die Oxydation und die Lackbildung (u. a. entsprechend der geringen Ionisation) langsamer vor sich und geht auch nicht so leicht zu weit, ist daher besser zu überwachen. Da ich immer quantitativ verfahre, bevorzuge ich aus leicht begreiflichen Gründen das Kaliumbichromat als Oxydans.

Die Menge freier Schwefelsäure, welche man der Farblösung hinzufügen muß, wenn man das neutrale Chromidsulfat, resp. den Chromalaun als Endprodukt bei der Oxydation mittels Kaliumbichromats wünscht, anwenden muß, berechnet sich zu: 1·333 g H_2SO_4 pro 1 g Kaliumbichromat, also braucht 0·276 g[1] Kaliumbichromat 0·368 g H_2SO_4.

Die Mengen von Kaliumbichromat, welche nötig sind, um nach dem oben Gesagten 1 g Hämatoxylin in die verschiedenen Oxydationsstufen zu oxydieren, habe ich hier berechnet (und praktisch geprüft). Die Zahlen sind, entsprechend dem praktischen Gebrauche, ein wenig abgerundet, was prinzipiell bedeutungslos ist.

Zur Bildung von

a)	Chromalaun-Hämateïn braucht	1 g	Hämatoxylin	0·28 g	Kaliumbichromat
b)	„ -Dioxyhämateïn „	1 „	„	0·55 „	„
c)	„ -Trioxyhämateïn „	1 „	„	0·69 „	„
d)	„ -Tetraoxyhämateïn „	1 „	„	0·83 „	„
e)	„ -Pentaoxyhämateïn „	1 „	„	0·96 „	„
f)	„ -Hexaoxyhämateïn „	1 „	„	1·10 „	„

Es lassen sich hiernach eine große Menge von Farblösungen konstruieren, welche innerhalb ziemlich weiter Grenzen gruppenweise die besprochenen gesetzmäßig abgestuften Farbtöne geben, sowie entsprechend dem Gehalt an basischen Chromsalzverbindungen, resp.

[1]) Diese Menge genügt, um zwei Wasserstoffatome in 1 g Hämatoxylin zu oxydieren.

nach dem verschiedenen Säurezusatz beliebig variiert werden können, mit Rücksicht auf Kernfärbung, Plasmafärbung, diffuse Färbung etc., wie ich oben auseinandergesetzt habe. Ganz entsprechende Variationen lassen sich bezüglich der Farblacke mit anderen Metallsalzen erreichen, wie ich wiederholt hervorgehoben und praktisch vielfach geprüft habe.

* * *

Die Chromalaunhämateïnrezepte, welche ich hier empfehle, sind aus einer großen Menge, praktisch geprüften, ausgewählt, als die mir zweckmäßigst erscheinenden; möge ein anderer nach seinem Ermessen andere Rezepte bevorzugen, das Prinzip einmal aufgestellt wird dadurch nicht verändert.

* * *

Mein Chromalaundioxyhämateïn hat folgende Zusammensetzung:

1) Chromalaun (chemisch rein) 10 g, wird gelöst in destilliertem Wasser 250 g, die Lösung wird gekocht, bis sie ganz grün wird.

2) Hämatoxylin (pur. krist.) 1 g wird in heißem destilliertem Wasser 10 bis 15 g gelöst, die beiden Lösungen werden vermischt, oder es werden die Hämatoxylinkristalle direkt in die heiße Chromalaunlösung unter Umrühren gelöst. Man läßt die nur schwach gefärbte Lösung erkalten, dann füge man:

3) 0·5 g H_2SO_4 (ca. 5 cc einer 10prozentigen Schwefelsäurelösung) hinzu und hernach

4) oxydiert man. Kaliumbichromat 0·55 g wird in ca. 20 cc warmem Wasser gelöst, und nachdem diese Lösung auch abgekühlt (durch Eintauchen des Reagensglases im Wasser), gießt man sie tropfenweise unter stetem Umrühren in die Chromalaunhämatoxylinlösung.

Man erwärmt die Mischung bis zum Kochen und läßt unter stetem Umrühren einige Minuten lang sieden, bis die Lackbildung vollendet ist, was oft nur 1 bis 2 Minuten dauert.

Durch den Schwefelsäurezusatz hält sich der Lack fast ganz in Lösung, ein geringer ungelöster Überschuß des Lackes schadet durchaus nicht, ist eher erwünscht.

Vor dem Gebrauche wird immer filtriert. Die Lösung hält sich sehr lange. Schnitte werden damit $^1/_2$ bis 2 bis 5 Minuten

und länger gefärbt; ohne daß man das Überfärben zu fürchten braucht, kann man stundenlang färben. Bei mäßiger Erwärmung (40 bis 50°) färbt sie auch noch schneller. Ich färbe entweder 5 bis 10 Minuten, erwärme gelegentlich kurz, ich habe nie einen Nachteil von der Erwärmung gesehen.

Die Farbe ist eine tief blauschwarze, äußerst präzise und scharfe Kernfärbung (Chromatin), auch das Plasma färbt sich schwach, aber bei der angegebenen Zusammensetzung ist die Kernfärbung dominierend.[1] Die Farbe ist gegen Säuren etc. äußerst widerstandsfähig und hält sich auch im Lichte vorzüglich. Sie läßt sich mit bestem Erfolge mit Säurefuchsin-Pikrinfärbung verwenden, sowie mit den roten und orangen Plasmafarben etc.

Indem der Chromalaun die Gewebe verschieden stark beizt, werden die Gegenfärbungen oft feiner abgestuft in ihren Tönen erscheinen, als bei der Tonerde-Hämatoxylinfärbung.

Ich empfehle diese Farbe und die folgenden als besser als Tonerdealaunhämateïn für den gewöhnlichen Gebrauch,[2] weil eben die Chromoxyhämateïne sehr echte Farben sind.

Für die Mikrophotographie haben sich diese Chromalaunhämateïne, ebenso wie meine Eisenhämateïnfärbung, sehr geeignet erwiesen.

Die Farbeverteilung ist so bestimmt, daß ich dieses saure Chromalaunhämateïn unverändert als Stückfärbung habe benutzen können. Man färbt dann bei kleinen Stücken 3 bis 4 bis 5 Tage lang (bei größeren länger), wäscht gut in destilliertem Wasser aus, welches oft gewechselt und am besten vorher durch Auskochen von Sauerstoff befreit wird,[3] ebenso wie man das Glas ganz vollfüllt bis an den Stöpsel. Das Auswaschen dauert am besten nicht zu kurz (3 bis 4 bis 5 Tage), aber selbst wenn das Wasser sich noch ganz schwach färbt, kann man ruhig mit Alkohol in steigender Konzentrierung weitergehen und dann einschmelzen.

Die Stückfärbung ist ebenso vorwiegend Kernfärbung, aber auch Plasma, Bindegewebe, Muskeln etc. haben einen schönen Ton er-

[1]) Der Schleim wird in der wässerigen Lösung oft metachromatisch rotviolett gefärbt, jedoch hält sich diese Metachromasie nicht in Alkohol.

[2]) Die Strukturen vertragen infolge der schwärzeren Farbe weit stärkere Vergrößerungen als beim Tonerdehämateïn.

[3]) Kann in vielen Fällen unterbleiben.

halten. Die glatten Muskeln färben sich gewöhnlich etwas grauer im Ton.

Durch vermehrten Schwefelsäuregehalt (z. B. 0·6 bis 0·7 g) läßt sich reine Kernfärbung erzielen, doch das muß je nach dem Material ausprobiert werden, gewöhnlich ziehe ich etwas Plasmafärbung mit vor.

* * *

Ist stärkere Plasmafärbung erwünscht, als die angegebene Farblösung gibt, so nehme man einfach 0·10 bis 0·25 bis 0·30 g Schwefelsäure statt 0·50 g.

Ohne Schwefelsäurezusatz färbt die Farblösung Kerne sehr intensiv, dann aber auch Plasma, Strukturen, Muskeln,[1] Zwischensubstanzen etc. stark, aber sehr „differenziert“, nur muß die Färbedauer sich etwas nach dem Material, der Fixation u. dergl. richten; gewöhnlich darf die Färbung nicht zu lange dauern, weil sie sonst zu intensiv wird. Das beste läßt sich doch sehr leicht ausprobieren. Für gewöhnlich verwende ich zwei Lösungen, mit resp. 0·25 g und 0·50 g Schwefelsäure, sowie eine Lösung ohne Schwefelsäure.

Geht man von der schwefelsauren, rein kernfärbenden Lösung aus, so ist dieselbe aber sehr leicht in eine sicher plasmafärbende zu verwandeln, man braucht nur die Farblösung mit ein wenig am besten frisch gefälltem Chromoxydhydrat ($Cr(OH)_3$) zu versetzen, gut schütteln, eventuell etwas zu erwärmen (nicht kochen!) und dann zu filtrieren. Auch mit entsprechend geringem Alkalizusatz bewirkt man dasselbe, und kann man sich so leicht die zur Neutralisation des Schwefelsäurezusatzes nötige Menge einer dünnen kohlensauren Alkalilösung berechnen und einem beliebigen Quantum der Farblösung zusetzen.[2]

Mit dem Tetraoxyhämateïn bis dem Hexaoxyhämateïn liefert der Chromalaun ja schwarze Färbungen. Wünscht man solche, so verwende man einfach: 250 g Wasser, 12 g Chromalaun, 1 g Hämatoxylin und (statt 0·55 g) 0·83 g Bichromas kalicus, man erhält so das Tetraoxyhämateïn, welches ich als das zweckmäßigste betrachte, oder man verwende 0·96 g Bichromas kalicus, womit man Pentaoxyhämateïn bekommt. Der Schwefelsäurezusatz sei dann

[1]) Man beachte die starke Färbung der glatten Muskelfibrillen, sowie die Membranellen vom Bindegewebe um die glatten Muskelzellen etc.

[2]) Durch Zusatz von kohlensaurem Alkali zur Tonerdehämateïnlösung (Alaunhämatoxylin) habe ich die gewöhnliche Lösung in eine stark schleimfärbende verwandeln können (darüber werde ich später berichten).

nicht größer als 0·3 bis 0·4 g, weil die Färbekraft der höheren Oxydationsprodukte geringer ist. Man koche energisch, bis sich die intensiv schwarzvioletten Lacke bilden, denn anfangs erhält man nur die braune Färbung des Oxyhämateïns. Ein Bodensatz schadet nicht; vor dem Gebrauche wird filtriert. Die Färbung ist eine Schnittfärbung, am besten mit Erwärmung, wie früher gesagt.

Auch als Stückfarben lassen sich die Lösungen verwenden, man setze aber dann etwas mehr Schwefelsäure hinzu, je nach dem Material; doch verfüge ich in dieser Beziehung nur über beschränkte Erfahrung.

* * *

Dagegen kann man mit Chromalaundioxyhämateïn[1] als Ausgangspunkt sehr leicht schwarze Schnittfärbungen extemporieren. Man vermische am besten 10 Teile der Färbelösung mit 1 Teil einprozentiger Bichromaskalicuslösung[2] in der Kälte und färbe z. B. unter mittlerer Erwärmung.

Alsdann bekommt man rein schwarze Kernfärbungen; auch andere Verhältnisse der Mischung lassen sich brauchen, nimmt man aber wesentlich mehr Bichromat, wird die Farbe nicht so intensiv und auch bräunlicher im Ton; bei entsprechender Variation der Mischungsverhältnisse lassen sich alle Töne von blauschwarz, schwarz bis zu braungelb und gelblich erzielen. (Die verschiedenen Mißfärbungen, welche gelegentlich bei der R. Heidenhainschen Chromhämatoxylin-Stückfärbung eintreten, erklären sich aus dem hier Mitgeteilten, ebenfalls, daß die Beizung der Gewebe gelegentlich geringer ausfällt, indem die Reduktion in Chromidverbindungen ungenügend vor sich geht.)

Beizt man beliebig fixiertes Material mit einer Chromalaunlösung, und behandelt man hernach die Stücke mit einer Lösung von Hämateïn oder besser Dioxyhämateïn, so erzielt man sehr gute Stückfärbungen; auch für Schnitte zu verwenden.

Die Fixierung des Chromoxyds (aus dem Chromalaun) auf den Geweben läßt sich sehr augenfällig so demonstrieren. Man beizt drei Stücke desselben Materials (z. B. in Alkohol oder Formolalkohol fixiertes) in

---

[1]) Mit 0·5 g Schwefelsäure.

[2]) Auch einprozentige Chromaskalicuslösung läßt sich in der Kälte verwenden.

a) 5 Prozent neutr. Chromalaun in Wasser (grün gekocht);
b) in derselben Lösung mit 1 bis 2 Prozent H_2SO_4 Zusatz;
c) in einer Lösung, in welcher durch Zusatz von einigen Tropfen konz. (25 Prozent) Ammoniak oder 10 Prozent Na_2CO_3 ein Mehrgehalt an löslichen basischen Salzen gebildet sind (siehe oben).[1]

Am besten beizt man bei Brütofentemperatur (30 bis 35 ° C.) ein paar Tage; die Lösungen dringen sehr gut ein, und dann sind die Stücke, welche in der neutralen (*a*) und der basischen (*c*) Lösung behandelt worden sind, ganz grün, graugrün; die in der sauren Lösung (*b*) dagegen sehr wenig resp. gar nicht graugrün. Durch diese Mittel, Schwefelsäurezusatz oder Alkalizusatz, hat man es in seiner Hand, die Intensität der Beizung zu variieren, je nach dem Material, natürlich auch durch die Dauer und die Temperatur.

Mit der basischen Beizung erhält man außer Kernfärbung mehr diffuse Färbung, welche sich besonders für dünne Schnitte und Plasmastrukturen eignen.

Nach der Beizung, durch welche unlösliche Chromoxydverbindungen (conf. oben) auf dem Gewebe befestigt worden sind, wird abgespült oder auch ausgewaschen (ist nicht so sehr von Belang) und hernach werden die Stücke (bei 30 bis 35 Grad) in dem 10fachen Volum von 0·5 Prozent Dioxyhämateïn[2] in Wasser oder auch mit 25 bis 50 Prozent Alkoholzusatz einige Tage (2 bis 5) gefärbt, je nach der Größe der Stücke.

Es bilden sich gewöhnlich keine Niederschläge, die Farbflüssigkeit wird nötigenfalls einmal erneuert, und jetzt bildet sich im Gewebe der tief schwarzblaue Lack, natürlich nur an den Stellen gebunden, wo die Beize gebunden war, während die Farbflüssigkeit zwar dunkler gefärbt, aber klar bleibt.

---

[1]) Z. B. 5 bis 10 Tropfen Ammoniak auf 250 g 5prozentiger grüner Chromalaunlösung; der entstehende Niederschlag muß sich in der kalten Lösung glatt wieder auflösen beim Schütteln; die Lösungen müssen sich auch nach dem Kochen klar halten.

[2]) 1 g Hämatoxylin wird in 150 g Wasser gelöst, es werden 0·31 g H_2SO_4 zugefügt; dann löst man 0·355 g Kaliumpermanganat in 50 g Wasser und vermische die kalten Lösungen. Man erwärmt, kocht ein paar Minuten und erhält eine tiefbraune Lösung von Dioxyhämateïn, welche sich sehr gut hält. Man kann das Hämatoxylin in entsprechend weniger Wasser lösen und nach der Oxydation mit der entsprechenden Alkoholmenge vermischen, z. B. 1 g Hämatoxylin in 50 g Wasser oxydieren, dann 50 g Alkohol zugefügt.

Nach passendem Auswaschen in destilliertem Wasser überführe man in Alkohol in steigender Konzentration, und da das Hämateïn oder Dioxyhämateïn in Alkohol etwas löslich ist, braucht man Niederschläge in den Stücken nicht zu fürchten; Paraffineinbettung oder Celloïdin. Gewöhnlich habe ich so verfahren:

Beizung in grüner Chromalaunlösung bei 30 bis 35° 2 bis 5 Tage, Auswaschung eventuell $^1/_2$ bis 1 Tag; Färbung in 0·5prozentigen Dioxyhämateïn ebenso lange.

Nur bei sehr schwierigem Material bilde ich in der Beizflüssigkeit ein wenig basische Salze.

Bei passendem Schwefelsäuregehalt der Beizflüssigkeit, 1 bis 2 pro Mille, erhält man mehr reine Kernfärbung.

* * *

Vergleichsweise habe ich auch eine Manganhämateïnlösung versucht; am besten verwendet man hier auch Dioxyhämateïn. Mit einer starken Lösung von Manganosulfat ($MnSO_4$) bildet eine einprozentige Lösung von Dioxyhämateïn einen violettbraunen Lack, welcher in der Wärme dissoziiert wird; in einer verdünnten Lösung von Manganosulfat tritt die Lackbildung nicht ein.

Das Manganhämateïn wird folgendermaßen bereitet:

Manganosulfat 5 g, destilliertes Wasser 200 g, Hämatoxylin 1 g werden gelöst. Man oxydiert mit Kaliumpermanganat 0·18 bis 0·19 g in 10 cc Wasser gelöst. Wünscht man Mangandioxyhämateïn, so verwende man einfach 0·36 g Kaliumpermanganat. — Beim Kochen erhält man erst einen intensiv schwarzvioletten Niederschlag und eine braune Lösung; setzt man aber eine ganz geringe Schwefelsäuremenge hinzu (1 bis 1·2 cc einer 10prozentigen H_2SO_4-Lösung + 200 g Farblösung), so ist der Niederschlag darin außerordentlich leicht löslich, und man erhält eine tief orangebraune Lösung, welche schön tiefbraune Kerne, braunes Plasma (auch braune Centrosomen) färbt. Anwendung ganz wie bei einer Alaunhämateïnlösung.

III.

Betreffend der gewöhnlichen Tonerdealaunhämateïnlösung habe ich gefunden, daß man, wenn man das von mir 1895[1] an-

[1]) Zool. Anz. No. 473.

gegebene quantitative Vorgehen bei der Herstellung des volloxydierten „Alaunhämatoxylins" befolgt, man durchaus nicht ängstlich zu sein braucht, etwas zu hoch zu oxydieren, wenn man nur das Dioxyhämateïn nicht überschreitet, auch muß genügend Alaun vorhanden sein. Eine passende kleine Menge Schwefelsäure dazu mit Rücksicht auf das zu bildende neutrale Manganosulfat bewirkt, wenn gewünscht, reinere Kernfärbung. Um neutrales Manganosulfat bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat in der Alaunlösung zu bilden, braucht 1 g Kaliumpermanganat 0·93 g Schwefelsäure; die pro 1 g Hämatoxylin zur Überführung in Hämateïn nötige Menge (0·177 g) Kaliumpermanganat braucht also 0·157 g H_2SO_4. Eine Tonerdealaunhämateïnlösung nach meinen Angaben im Jahre 1895 (Zool. Anz. No. 473) läßt sich jetzt auch so zusammensetzen, indem ich nur den geringen und praktisch bedeutungslosen Alkoholgehalt weggelassen habe.

a) 20 g Kalialaun gelöst in 200 g destilliertem Wasser in der Wärme. — 1 g Hämatoxylin wird ebenso in der warmen Alaunlösung leicht aufgelöst, eventuell durch Kochen.

Man oxydiere mit einem der vielen geeigneten Sauerstoffspender, am besten, wie ich es empfohlen habe, b) mit (0·177) 0·18 g Kaliumpermanganat,[1] welches in einer kleinen Menge Wasser gelöst wird. Indem a und b kalt vermischt werden, beginnt sogleich die Hämateïnbildung und die Lackbildung. Ich erhitze aber die Mischung zum Kochen, weil so die Hämateïnbildung und die Lackbildung in kürzester Zeit beendet wird; in der Kälte dauert es etwas länger, bis der Prozeß abgelaufen ist.

Viele Histiologen arbeiten, um reine Kernfärbung zu erhalten, mit Vorliebe mit einer dünneren Tonerdealaunhämateïnlösung, wie mit dem P. Mayerschen Hämalaun.

Eine dem Hämalaun in allen den Eigenschaften, worauf es ankommt, ähnliche Hämateïnalaunlösung stellt man sich aus meinem Tonerdealaunhämateïn leicht dar durch einfache Verdünnung mit Alaunwasser. Man nehme einfach 220 g meiner Lösung,[2] dem neuen oder dem alten Rezepte nach, und

[1]) 3 cc einer bei 16° konzentrierter wässeriger Lösung von Kaliumpermanganat, wie ich seinerzeit für die Praxis angab, entspricht mit genügender Genauigkeit dem hier angegebenen Quantum.

[2]) Ob dieselbe die 10 cc Alkohol, welche früher zur Auflösung des Hämatoxylins gebraucht wurden, enthält oder nicht, ist praktisch ganz bedeutungslos; ebenso ist der Manganosulfatgehalt ganz gleichgültig, von

vermische sie mit 800 g Wasser und 30 g Alaun. Das Resultat ist, wie leicht ersichtlich, „Hämalaun“.

IV.

Ein paar einfache Methoden zur Darstellung von Hämateïnlösungen dürften hier angezeigt sein.

A. Wässerige Hämateïnlösung.

1) 1 g Hämatoxylin (pur.) wird in der Wärme in 50 g destilliertem Wasser gelöst, dazu 0·157 g H_2SO_4[1] (0·16 g).

2) 0·177 g (0·18) Kaliumpermanganat in 50 g destilliertem Wasser gelöst.

1 und 2 werden vermischt (kalt), die Reaktion beginnt sogleich. Man erwärmt kurz zum Kochen, und läßt nach der sehr schnellen Beendigung der Reaktion wieder erkalten, indem man das Gefäß in kaltes Wasser stellt.

Man hat alsdann eine dunkel orangebraune Lösung von Hämateïn erhalten, welche sich fortwährend fast klar hält. Ein ganz geringfügiger Niederschlag mit der Zeit schadet nicht, wird aber auch teils durch beliebigen Alkoholzusatz, teils durch Verdünnung bis auf 1/2 Prozent vermindert. Die geringen Spuren von Kaliumsulfat und Manganosulfat sind praktisch ohne jede Bedeutung für unsere Zwecke.

---

keinerlei Einfluß auf die Farbe. Es ist eine theoretische Prüderei, an dem gebildeten Manganosulfat Anstoß zu nehmen und nicht auch den verwendeten Kalialaun auf Verunreinigungen zuerst chemisch zu untersuchen, was gewiß kein Mikrotechniker tut. Die Methode von Harris (1898), statt Kaliumpermanganat Quecksilberoxyd zur Oxydation des Hämatoxylins in der warmen Alaunlösung zu verwenden, ist von autoritativer Seite als „theoretisch richtiger“ als die meinige (1895) bezeichnet worden, wahrscheinlich hat man erstens nicht kontrolliert, ob die Reaktion auch quantitativ verläuft, wie wir dies beim Kaliumpermanganat z. B. wissen, zweitens ist auch die Richtigkeit nur eine „theoretische“, denn praktisch enthält die Hämateïnalaunlösung nach dem Kochen mit Quecksilberoxyd aufgelöste Quecksilbersalze, wie leicht nachweisbar; vielleicht rührt die „bessere Haltbarkeit“ der Harrisschen Lösung (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 1901) gegenüber der Mayerschen Lösung nicht vom Klima, sondern von dieser praktisch sonst gewiß unwichtigen Verunreinigung mit Quecksilbersulfat her. Natürlich haben all diese ganz kleinen Mengen von Nebenprodukten ebensowenig zu bedeuten wie das Jodnatrium in Paul Mayers neuestem Hämalaun.

[1]) Man scheue die kleine Mühe nicht, diese Menge titrimetrisch beizufügen, wenn man ganz genau arbeiten will.

Ein Alkoholzusatz, z. B. von 10 bis 25 Prozent, kann empfohlen werden.

Nach ganz derselben Methode lassen sich beliebig hochoxydierte Oxyhämateïnlösungen darstellen (s. oben). Eine Dioxyhämateïnlösung von $^1/_2$ Prozent habe ich mehrmals mit gutem Erfolge verwendet.

1 g Hämatoxylin in 150 g Wasser gelöst, dazu 0·32[1] g H_2SO_4 wird mit 0·36[2] g Kaliumpermanganat in 50 g Wasser gelöst, oxydiert; man erhält eine tiefbraunrote Lösung; eventuell Alkoholersatz eines Teiles des Wassers.

* * *

Ich habe im vorhergehenden die Oxydationsprodukte des Hämateïns rein praktisch als Di-, Tri-, Tetra- etc. Oxyhämateïne benannt und, wie gesagt, vorläufig ganz willkürlich die Sache so betrachtet, als ob 2 bis 6 Wasserstoffatome des Hämateïns oxydiert würden, indem die 1 bis 3 Sauerstoffatome verbraucht würden, gleichviel ob wirklich 2 Wasserstoffatome als Wasser wegoxydiert würden (wie das bei der Hämateïnbildung aus dem Hämatoxylin geschieht), oder ob vielleicht Hydroxylierung eines Wasserstoffatoms durch Einführung des Sauerstoffatoms erfolgte. Sobald wir nämlich über das Hämateïn hinausgehen, wußten wir, bisher wenigstens, nichts genaueres über die Natur und Konstitution der Oxydationsprodukte anzugeben. In den letzten Jahren sind wir aber durch die Arbeiten von Perkin und Yates,[3] welche mir nicht zugänglich waren, und durch die Arbeiten von St. v. Kostanecki und Lampe, sowie von Bollina, v. Kostanecki und J. Tambor u. a. über die Konstitution und den Abbau des Brasilins und des mit demselben so eng verwandten Hämatoxylins sehr viel genauer unterrichtet worden. Wer die hierher gehörige fachchemische Literatur studiert, wird an der Hand der da angegebenen Daten leicht sehen, daß es mehrere tatsächlich vorhandene Möglichkeiten zum Unterbringen, resp. zum Verbrauche von 3 (und auch mehr) Sauerstoffatomen gibt, wie ich es oben angenommen hatte. Sei es nun Hydroxylierung oder Wegoxydation von Wasserstoff, eventuell mit Doppelbindung oder Ringschließung, sowie auch Kondensation oder Verkettung von zwei oder

---

[1]) Eigentlich 0·314.

[2]) Eigentlich 0·355 g.

[3]) Proced. chem. Soc. vol. XVI, 1900.

mehreren Farbstoffmolekülen, mit oder ohne Beteiligung von Metallsalzmolekülen. Was speziell die höheren Oxydationsprodukte betrifft, würde es mich nicht überraschen, wenn Ringbildung oder Verkettung von mehreren Farbstoffmolekülen gefunden werden sollte.

Die eigentümlich verlangsamte Lackbildung, welche besonders bei Farbstofflösungen auftritt, welche einige Zeit (ohne Nachoxydation) gestanden hatten, könnte auf eine also temporär verminderte Reaktionsfähigkeit hindeuten. Ebenso ist die Möglichkeit der Kondensation bei der Lackbildung in der Lösung und insbesondere bei der Fixierung des Farblackes in den Geweben zu denken; auch das mit der Zeit selbst in ganz gefüllten, wohl verschlossenen (ausgedampften) Flaschen auftretende Unlöslichwerden eines Teiles des Farblackes[1] könnte dafür sprechen. Besonders mache ich auf das Phänomen aufmerksam, daß alle Chromalaunhämateïn- und Oxyhämateïnlacke in der Lösung blauviolett, resp. tiefblau erscheinen, im Gewebe fixiert vielfach ganz schwarz färben.

Weiter sich in Vermutungen zu ergehen, hat vorläufig (für mich) keinen Zweck; der Möglichkeiten sind eben viele. Eine Diskussion an der Hand der Konstitutionsformeln hat nur Wert für das Aufsuchen von Direktiven für eine genaue quantitative chemische Untersuchung der besprochenen Verhältnisse. Von großem Wert wäre jedenfalls die Elementaranalyse, u. a. die Bestimmung der Anzahl Metallatome in den Farblacken der Eisen- und Chromverbindungen im Verhältnis zur Anzahl der Hämatoxylin- resp. Hämateïnmoleküle. Man bekäme dann etwas festeren Boden unter den Füßen für theoretische Deduktionen. Es ist natürlich sehr wohl möglich, daß schon in der technischen Literatur derartige, mir nicht auffindbare Angaben vorliegen, in der mir zugänglichen chemischen Literatur habe ich solche nicht gefunden, auch wird ja selbst in den speziell farbchemischen Lehrbüchern aus der neuesten Zeit angegeben, daß die höheren Oxydationsprodukte des Hämatoxylins nicht genau untersucht worden sind.

Es ist für einen Chemiker selbstverständlich, daß das meiste des hier Mitgeteilten nicht bloß auf das Hämatoxylin und dessen Oxydationsprodukte, sondern auch auf das so eng und gleichartig konstituierte Brasilin und dessen Oxyderivate angewendet werden kann, wie mir auch einige hierher gehörige Versuche bestätigt haben.

---

[1]) Wird durch die Ansäuerung (Salzbildung) verhindert.

Durchgehend aber sind die Hämatoxylinfarben den Brasilinfarben für mikroskopische Zwecke vorzuziehen, u. a. weil die Hämatoxyline mehr blau resp. blauschwarz sind, und daher optisch den mehr roten Brasilinderivaten vorzuziehen sind. Durch Berücksichtigung der Differenz im Molekulargewicht (und der Anzahl der Hydroxylgruppen) lassen sich sehr leicht die oben angegebenen Rezepte auf das Brasilin und Brasileïn umrechnen.

* * *

Es war (und ist noch) meine Absicht, die methylierten Hämatoxyline auf ihr färberisches und lackbildendes Vermögen zu untersuchen, weil ich aber zu spät die dazu nötigen Materialien bekommen habe, muß ich diese Versuche von der vorliegenden Publikation ausschließen.

Für die Ausarbeitung der in dieser Arbeit mitgeteilten Untersuchungen habe ich, soweit möglich, die wichtigsten fachchemischen Originalarbeiten über das Hämatoxylin studiert und den größten Nutzen, wenigstens für meine eigene Auffassung der hierhergehörigen Verhältnisse, davon gehabt. Hatte ich doch selbst vor Jahren das Hämatoxylin sowie das Hämateïn und dessen Farblacke zuerst aus den chemischen Lehrbüchern kennen gelernt, und ist doch die Darstellung des Hämateïns und des Hämateïnammoniaks schon im Jahre 1842 von O. L. Erdmamn so sorgfältig beschrieben worden, wie noch nicht in der histologisch-mikrotechnischen Literatur, so daß Erdmanns Methode der Darstellung[1] seitdem in den größeren chemischen Handbüchern steht, von den späteren Originalabhandlungen nicht zu reden.

V. Über Ferricochenillelösung.

Daß Cochenille mit Eisenverbindungen graue resp. schwarze Farbtöne gibt, ist den Färbern ja längst bekannt, daher auch die Warnung vor eisenhaltigem Wasser bei der Cochenillefärberei. In der Mikrotechnik sind diese schwarzen Cochenilleeisenlacke von A. Spuler[2] verwertet, welcher besonders eine Stückfärbung in zwei Stufen an-

[1]) Oxydation einer ammoniakalischen Hämatoxylinlösung an dem Luftsauerstoff in einer flachen Schale.

[2]) Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. I. Artikel Cochenille (1903), p. 153—154.

gegeben hat, indem erst mit einem Cochenilleauszug durchgefärbt und dann in Eisenalaunlösung gebeizt und umgefärbt wird. Auch für Schnitte läßt sich diese Methode natürlich verwenden. Später hat K. Peter[1] eine abgeänderte Spulersche Methode benutzt, um bei sonst schwarzer Farbe der Kerne etc. die Dotterkörner rotgefärbt zu erhalten.

Nun habe ich nach Analogie der von mir oben beschriebenen Eisenalaunhämateïnlösung und Chromalaunhämateïnlösung ein paar Farblösungen hergestellt, welche ich u. a. des theoretischen Vergleiches wegen neben der Hämateïnfärbung besprechen werde.

Wässeriger Cochenilleauszug gibt bekanntlich mit Eisenchlorid sowie mit Eisenalaun schwarze Fällungen. In Säuren lösen sich diese schwarzen Ausfällungen wieder auf.

Es läßt sich nun ziemlich leicht eine Ferricochenillelösung ausprobieren, welche Kerne intensiv schwarz färbt, ebenso, aber schwächer, die übrigen Bestandteile in schwarzer bis grauer Farbe.

Ich benutze seit längerer Zeit mit Erfolg unten beschriebene Lösung:

Ferriammoniumsulfat (Eisenalaun) 8 g wird aufgelöst in destill. Wasser 250 g, Cochenillepulver 5 bis 10 g wird darin sorgfältig verteilt (es färbt sich die Cochenille sogleich ganz schwarz), und 15 cc einer 10prozentigen Schwefelsäurelösung werden zugesetzt; man erhitze unter Umrühren zum Kochen und lasse cirka 15 bis 20 Minuten sieden, indem man das abgedampfte Wasser von Zeit zu Zeit ersetzt; nach 10 Minuten Kochen werden wieder 10 cc der 10prozentigen Schwefelsäure zugesetzt, so daß im ganzen 25 cc 10prozentige Schwefelsäure zugefügt worden sind.

Die Farblösung wird abfiltriert und soll ganz dunkelbraun bis schwarzbraun sein. Die Lösung ist sehr haltbar.

Man färbt Schnitte aus beliebigem Material darin 5 bis 10 Minuten, eventuell mit Erwärmung der Lösung; spült ab mit destilliertem Wasser, gewöhnliches Leitungswasser kann nach Belieben zur Nachbehandlung verwendet werden, die Farbe wird dadurch vielleicht etwas besser fixiert.

Gewöhnlich braucht man nicht zu differenzieren, aber in verdünnten Säuren (2- bis 4prozentige Essigsäure langsam oder 1 bis 2 bis

[1]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI, 1904, p. 314—320 (Eine neue Dotterfärbung), Jan. 1905.

5promillige Schwefelsäure schneller) erzielt man jeden beliebigen Grad von Kernfärbung.

Auch als Stückfärbung läßt sie sich sehr gut verwenden. Man färbt alsdann 3 bis 4 bis 5 Tage (oder länger) in der Lösung; Auswaschung in destilliertem Wasser, dann Härten in Alkohol steigender Konzentration etc. Vorzugsweise sind die Kerne ganz schwarz gefärbt, aber auch Plasma und die übrigen Gewebsbestandteile haben feine graue Töne erhalten; so stark plasmafärbend wie Eisenhämateïn ist sie lange nicht, deswegen eignet sie sich besonders für Stückfärbung.

Das Eisensalz muß eine Ferriverbindung sein;[1] dies läßt sich leicht demonstrieren.

Kocht man z. B. Cochenillelösung mit einer Lösung von Ferroammoniumsulfat, welcher sicher keine Ferriverbindungen enthält, so bekommt man nur purpurrote Farbe der Mischung; sehr ähnlich der Alauncochenille unter sicherem Ausschluß von Sauerstoff färbt diese Ferrocochenillelösung ganz purpurrot, analog einer Alauncochenille, läßt man aber die also roten Schnitte in sauerstoffhaltigem Wasser liegen, so changiert die Farbe nach und nach in grau bis schwarz (Kerne). Erst werden die Kerne schwarz, dann folgt das Plasma, während das Bindegewebe sich etwas länger rot hält.

Wird eine Spur von oxydierender Substanz in die Lösung gebracht, so tritt mit dem Ferrisalz sogleich die graue bis schwarze Färbung ein.

Auch der umgekehrte Versuch läßt sich machen. Tropft man eine 1prozentige Oxalsäurelösung zu der schwarzbraunen Ferricochenillelösung (warm), so verwandelt sich nach und nach das Ferrisalz in Ferrosalz; sobald diese Umwandlung vollständig ist,[2] ist die Flüssigkeit jetzt ganz rotfarbig geworden und färbt die Schnitte (aus sauerstofffreiem Wasser) auch rot, wie oben beschrieben; bei Gegenwart von sauerstoffhaltigem Wasser geht die Farbe wieder in schwarz über.

Oxydationsmittel verwandeln natürlich die also durch Oxalsäure reduzierte rote Ferrocochenille wieder in schwarze Ferricochenille. Dieser Versuch läßt sich vielfach variieren.

Vermischt man ausgekochte Alaun[3] cochenillelösung mit gleichen

---

[1]) Im Gegensatz zum Eisenhämateïn.

[2]) Ein kleiner Überschuß an Oxalsäure ist vorteilhaft um die Luftoxydation zu neutralisieren.

[3]) Tonerdealaun.

Teilen einer gleichprozentigen, sicher ferrisalzfreien Lösung von Eisensulfat[1] (oder MOHRS Salz), so färben sich bei Sauerstoffausschluß die Schnitte nur rot oder purpurn, wie bei der Alauncochenille üblich, beim geringsten Zusatz[2] aber von oxydierender Substanz (z. B. Gegenwart von Chromaten oder Chromichromat) wird die Färbung aber gleich schwärzlich, — hier zuerst das Plasma, während sich die Kerne länger rotviolett halten. Letzteres Verhalten beruht natürlich darauf, daß sich der violette oder purpurne Tonerdecochenillelack in die Kerne lokalisiert hat, und daß er erst nachträglich durch den Ferrilack verdrängt werden soll; in dem zuerst erwähnten Versuche, wo nur Eisenbeize vorhanden war, müßten natürlich die Kerne ihrer Affinität entsprechend zuerst die Ferrisalze aufspeichern und so zuerst und am stärksten schwarz werden.[3] Es ist für das Gelingen dieser Versuche notwendig, unter peinlichstem Ausschluß des Sauerstoffs von den Ferroverbindungen zu arbeiten.

VI. Chromalauncochenille.

Eine ziemlich gut verwendbare Chromalauncochenille läßt sich leicht herstellen:

Chromalaun	5 g
Destilliertes Wasser	200 „
Cochenille	10 „

werden 15 bis 20 Minuten gekocht, indem das abgedampfte Wasser immer ersetzt wird, eventuell kann etwas (5 cc 10prozentige H_2SO_4) zugefügt werden.

Man erhält nach der Filtrierung eine dunkelgraublaue Lösung, welche Kerne tief graublau färbt, während das Plasma sich mehr

---

[1]) Eventuell mit einem ganz kleinen Oxalsäuregehalt.

[2]) Die gewöhnlichen wässerigen Lösungen von Eisenoxydulsalzen enthalten ja immer etwas Ferrisalz, ohne besondere Vorsichtsmaßregeln würde also auch gewöhnliche Eisensulfatlösung die roten Cochenillefarben schwarz färben.

[3]) Ganz analog dem hier Gesagten erklärt sich also PETERS Rotbleiben der Dotterkörner beim schwarzen Färben der Kerne. Der wässerige Cochenilleauszug ist wahrscheinlich in den Dotterkörnern stärker gebunden als in den (nicht gebeizten) Kernen; kommt jetzt Eisenalaunlösung hinzu, so findet die Lackbildung in den Kernen und also auch die Umfärbung viel leichter statt als in den Dotterkörnern, deren Affinitäten schon besser durch die Cochenille abgesättigt waren.

grau färbt. Besonders für Durchfärbung eignet sich diese Farblösung sehr gut; sie ist vorwiegend kernfärbend. Schnitte färbe man entweder stundenlang oder erwärme die Farblösung; wünscht man stärker diffuse Färbung, setze man 2 g Kaliumacetat hinzu und koche die Lösung, oder man füge dem jedesmal zu gebrauchenden Quantum ein wenig Ammoniak hinzu, 5 bis 8 Tropfen einer 25prozentigen Ammoniaklösung auf 200 cc Farblösung genügen, aber durch etwas Thymolzusatz muß man alsdann diese ammoniakhaltige Lösung vor Schimmelbildung schützen.

Schnitte in der Chromalauncochenillelösung gefärbt werden mit $^1/_2$ pro Mille Bichromaskalicuslösung behandelt schwarz. 2 pro Mille Urannitratlösung bewirkt ebenso erst schwarze, hernach grünschwarze bis dunkelgrüne Farbe der Schnitte. Übrigens glaube ich nicht, daß diese Farblösung je besondere praktische Bedeutung erlangen wird, weil wir andere bessere Lösungen besitzen; ich habe sie auch nur deswegen erwähnt, weil sie für die Chromcochenillelackbildung interessant ist.

Der Chromidcochenillelack bildet sich nämlich nur leicht beim Kochen der Chromalaunlösung mit dem Cochenillepulver, bei niedrigerer (also auch gewöhnlicher) Temperatur bekommt man eine scharlachrote Lösung der Cochenille in Chromalaunlösung, welche die Kerne rot färbt, auch die roten Blutkörperchen stark etc.; erst beim Erhitzen der Schnitte in der Farblösung bis zum Kochen[1] sieht man die rote Farbe in dunkelgraublaue umschlagen, ganz wie im Ton der gebildeten Chromidcochenillelacke.

Nun ist es bekannt, daß man gelegentlich bei Alauncochenillestückfärbung von Material, welches in Chromaten fixiert wurde, oft z. B. die glatte Muskulatur (auch Schleim ab und zu) mit violettroten Kernen und graublauem Plasma gefärbt erhält, daß also eine ganz hübsche Metachromasie vorliegen kann. Nach der Farbe der Chromidcochenillelacke zu urteilen, und da bekanntlich die glatte Muskulatur nicht wenig Chromidhydroxydverbindungen zu binden vermag (so sieht sie an den in Chromalaun gebeizten Stücken ganz graugrün aus), vermute ich daher, daß diese „Metachromasie“ auf die durch die lange Stückfärbedauer bewirkte Bildung von Chromidcochenillelack statt der Tonerdecochenillelack beruht.

[1]) Hat natürlich nur experimentelle Bedeutung.

Literaturverzeichnis.

(Die allgemeine chemische Literatur ist nicht angeführt.)

I. Fachchemische Literatur.

1) ERDMANN, O. L., Über das Hämatoxylin (Journ. f. prakt. Chemie Bd. XXVI, 1842, p. 193—216 [Grundlegendes Werk]).

2) Ref. desselben in: Annalen der Chemie und Pharmacie, herausg. von WÖHLER u. LIEBIG. Bd. XLIV, 1842, p. 292—296.

3) Handwörterbuch der reinen und angewandten Chemie von LIEBIG, POGGENDORFF u. WÖHLER. Bd. III, 1848, Artikel: Hämateïn und Hämatoxylin, p. 757—762.

4) ERDMANN, O. L., Vermischte Mitteilungen. 7. Über das Hämatoxylin (Journ. f. prakt. Chemie Bd. LXXV, 1858, p. 218—224).

5) HESSE, O., Über das Hämatoxylin (Ann. d. Chemie u. Pharmacie Bd. CIX—CX, 1859, p. 332—341).

6) REIM, F., Über das Hämatoxylin (Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1871, p. 329—334).

7) HUMMEL, J. J., u. PERKIN, A. G., Über einige neue Verbindungen des Hämateïns und Brasileïns (Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1882, p. 2337—2347 [u. a. eine einfache Darstellungsmethode des Hämateïns]).

8) ERDMANN, E., u. SCHULTZ, G., Über das Hämatoxylin und Hämateïn (Ann. d. Chemie u. Pharmacie Bd. CCXVI, 1883, p. 232—240).

9) NIETZKI, R., Chemie der organischen Farbstoffe. 2. Aufl. Berlin 1894. 3. Aufl. 1897. 4. Aufl. 1901.

10) RUPE, H., Chemie der natürlichen Farbstoffe. Braunschweig 1900.

11) HUMMEL, J. J., u. KNECHT, E., Die Färberei und Bleicherei der Gespinstfasern. 2. Aufl. Berlin 1891.

12) KOSTANECKI, ST. v., LAMPE, V., Studien über das Brasilin (Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1902, Bd. II, p. 1667—1674).

13) BOLLINA, E., KOSTANECKI, ST. v., TAMBOR, J., Studien über das Brasilin (Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1902, Bd. II, p. 1675—1679).

14) KOSTANECKI, ST. v., ROST, A., Naphthalin aus Umwandlungsprodukten des Hämatoxylins (Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1903, Bd. II, p. 2202—2206; vgl. auch ein paar andere Artikel daselbst von v. KOSTANECKI).

15) PERKIN, W. H. jun., Über den Abbau des Brasilins (Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1902, Bd. III, p. 2946—2947).

16) HERZIG, J., u. POLLAK, J., Über Brasilin und Hämatoxylin (Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1903, Bd. I, p. 398—400).

17) HERZIG, J., u. POLLAK, J., Brasilin und Hämatoxylin (ibid. 1903, Bd. II, p. 2319—2320).

18) HERZIG, J., u. POLLAK, J., Über Brasilin und Hämatoxylin (ibid. 1903, Bd. IV, p. 3713—3715).

II. Mikrotechnische Literatur (nur eine Auswahl).

1) BENDA, C., Über eine neue Färbemethode des Zentralnervensystems und Theoretisches über Hämatoxylinfärbungen [Eisenhämatoxylin] (Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt., 1886, p. 562—564).

2) Mayer, P., Über das Färben mit Hämatoxylin (Mitteil. d. zool. Stat. Neapel Bd. X, 1891, p. 170—186 [macht auf das Hämateïn aufmerksam]).

3) Heidenhain, M., Neue Untersuchungen über Zentralkörper (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XLIII, 1894 [s. p. 431—432, Eisenhämatoxylin]).

4) Benda, C., Zellstrukturen und Zellteilungen des Salamanderhodens (Verh. d. anat. Ges., VII. Vers. Göttingen 1893, p. 161—165 [Eisenhämatoxylin]).

5) Hansen, Fr. C. C., Eine schnelle Methode zur Herstellung des Böhmerschen Hämatoxylins (Zool. Anz. No. 473, 1895, Febr. [Das quantitative Verfahren bei der Oxydation des Hämatoxylins in Hämatein]).

6) Mayer, P., Über Hämatoxylin, Karmin und verwandte Materien (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie Bd. XVI, 1899, p. 196—220).

7) Janssens et Leblanc, Recherches cytologiques sur la cellule de la levure (La Cellule t. XIV, 1898): Ref. in Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XV, p. 264 (hématoxyline noire).

8) Mayer, P., Beruht die Färbung der Zellkerne auf einem chemischen Vorgang oder nicht? (Anat. Anz. Bd. XIII, 1899, p. 313—322).

9) Lee u. Mayer, Grundzüge der mikroskopischen Technik. 2. Aufl. 1901.

10) Lee et Henneguy, Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique. Paris 1896.

11) Enzyklopädie der mikroskopischen Technik Bd. I—II. Berlin 1903. (Verschiedene Artikel.)

12) Weigert, K., Eine kleine Verbesserung der Hämatoxylin-van Gieson-Methode (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI, 1904, p. 1—5).

13) Schultze, O., Über Stückfärbung mit Chromhämatoxylin (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI, 1904, p. 5—9).

14) Peter, K., Eine neue Dotterfärbung (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI, 1904, p. 314—320).

Kopenhagen, 9. März 1905.

[Eingegangen am 30. März 1905.]

[Aus dem k. k. hygienischen Institut des Prof. Dr. Gust. Kabrhel in Prag.]

Zur Theorie der vitalen Färbung.

Von

Dr. Vladislav Růžička,

Institutsassistent.

Durch eine ausgedehnte Versuchsreihe ist es mir gelungen, in dem tinktoriellen Verhalten des lebenden und toten Protoplasmas eine Differenz nach der Richtung hin zu eruieren, daß sich das lebende rot, das tote aber blau färbt, wenn man ihm ein äquimolekulares Gemisch von Neutralrot und Methylenblau vorsetzt.

Die Methode gestaltet sich folgendermaßen:

Man mischt 0·05prozentige Lösungen von Neutralrot und Methylenblau medic. Höchst in destilliertem Wasser zu gleichen Teilen. Von dem Gemisch tropft man auf gut gereinigte Objektträger und läßt die Tropfen bei 35° C. im Trockenschrank verdampfen. Auf die angetrocknete Farbschicht bringt man sodann das Objekt in dem für dasselbe isotonischen Medium, das hiermit zugleich als Lösungsmittel des Färbegemisches dient.

Die verwendeten Farbstoffe sind beide basischen Charakters, ihre Konstitution ist, wie aus den nachstehenden, Pappenheims Farbchemie (St. 381 und 376) entnommenen, Formeln zu ersehen ist, sehr analog.

$$N \begin{cases} C_6H_3\,N(CH_3)_2 \\ C_6H_2-NH_2 \\ \quad\; CH_3 \end{cases} N \qquad \text{Mol. Gewicht 252·53 Neutralrot.}$$

$$N \begin{cases} C_6H_3\,N(CH_3)_2 \\ C_6H_3=N(CH_3)_2 \end{cases} S \qquad \text{Mol. Gewicht 284·36 Methylenblau.}$$

Infolge dieses Umstandes erscheint das elektive Verhalten der beiden Farbstoffe sehr interessant, und zwar um so mehr, als keine zwingenden Gründe vorhanden sind, um bei denselben ein verschiedenes Molekularvolumen anzunehmen.

Es ist im Interesse der Theorie der Färbung sicherlich wichtig, ein klares Bild von den Vorgängen, welche bei Anwendung meiner Methode die Färbung ermöglichen, zu erhalten.

Dies werde ich nun hier zu entwerfen trachten. Wie die Erkenntnis dieser Vorgänge das tiefere Eindringen in die Strukturunterschiede zwischen dem lebenden und toten Protoplasma zu fördern vermag, habe ich an einer anderen Stelle dargelegt.[1]

Um eine leichtere Analyse dieser Vorgänge zu ermöglichen, suchte ich den Färbungsakt in seinen Hauptkomponenten:

1) Dem Eindringen des Farbstoffes in die Zelle und

2) der (sei es physikalischen oder chemischen) Bindung des Farbstoffes in der Zelle

näher zu erfassen.

Hierbei ging ich von der Voraussetzung aus, daß sich die lebende Substanz in mehr oder minder flüssigem Zustande befindet und aus zwei Schichten von verschiedener Dichte, einer äußeren dichteren und einer inneren flüssigeren, besteht. Denkt man sich eine derartig zusammengesetzte Zelle von einer Flüssigkeit umgeben, so wird sich ihre Außenschicht den von derselben getrennten Flüssigkeiten (d. h. dem Medium und der Innenschicht) gegenüber wie eine Membran verhalten. Die physikalischen Eigenschaften dieser Membran werden für den Austausch der durch dieselbe getrennten Flüssigkeiten entscheidend sein.

Da es sich in meinem Falle darum handelt, nur das Verhalten von basischen Farbstoffen zu prüfen, so kann der Umstand, daß die vorliegende Membran nicht für alle Stoffe permeabel ist (da mit Ausnahme von Methylorange und der Tropäoline 00 und 000 keine saueren Farbstoffe dieselbe zu durchdringen vermögen), vernachlässigt werden.

Somit nehmen wir die Membran als unveränderlich und für wässerige Lösungen basischer Anilinfarbstoffe durchgängig an, wodurch der vorliegende Fall auf seine einfachsten Bedingungen zurückgeführt erscheint.

---

[1]) Siehe meine Arbeit „Über tinktorielle Differenzen zwischen lebendem und abgestorbenem Protoplasma“ (PFLÜGERS Arch. 1905).

Dies alles angenommen, haben wir einen Fall vor uns, in welchem die Färbung nach den Gesetzen der einfachen Diffusion vor sich gehen sollte. Daß die Diffusion gelöster Stoffe in Colloiden mit derselben Geschwindigkeit vor sich geht wie in wässerigen Lösungen, hat bereits GRAHAM (1862) bewiesen.

Diesen Gesetzen gemäß werden Farbstofflösungen mit einer Schnelligkeit aufgenommen, welche der Konzentration der Lösungen proportional und von der Reibung der Farbstoffmoleküle abhängig ist. Die Diffusion dauert solange, bis die Konzentrationen der zu beiden Seiten der Membran befindlichen Flüssigkeiten ausgeglichen sind. Bei einem elektrolytisch vollkommen dissoziierten Färbegemische, wie es in unserem Falle vorliegt, müßte schließlich die Lösung zu beiden Seiten der Membran gleich, d. h. im Mischtone, also violett, gefärbt erscheinen.

Mit Hinblick darauf ist es klar, daß die Ergebnisse meiner Versuche die angedeutete einfache physikalische Deutung nicht zulassen; denn das Gemisch müßte mit derselben Geschwindigkeit diffundieren, wie die dasselbe zusammensetzenden Einzellösungen. Dies tritt jedoch nicht zutage, denn die lebenden Zellen entnehmen dem Gemische nur die rote, die toten nur die blaue Farbe.

Diese mit aller Sicherheit[1] konstatierte Tatsache gestattet eine zweifache Deutung:

1) Beide Farbstoffe dringen in die Zelle ein, doch unterliegt der eine, je nach Leben oder Tod der Zelle, chemischen Umwandlungen, so daß stets nur der zweite zum Ausdruck gelangt.

2) Das Methylenblau kann in die lebende Zelle nicht eindringen, weil sich dem Durchtritte seines Moleküls durch die Zellaußenschicht ein für seinen Partiärdruck unüberwindlicher Widerstand entgegenstellt.

Der zweiten Deutung gemäß müßte man dafürhalten, daß die Außenschicht der lebenden Zelle nur dem Neutralrotmolekül formadäquate Poren besitze, und daß dieselben erst durch den Tod der Zelle eine auch für das Methylenblaumolekül formadäquate Gestaltung erfahren.

Es leuchtet jedoch ein, daß — wenn diese Deutung richtig wäre — die definitive Färbung der (toten) Zelle wiederum violett sein müßte. Sie ist jedoch rein blau. Nur Bakterien und Hyphomyceten lassen sowohl während des Lebens, als auch nach dem

[1]) Siehe diesbezüglich meine oben citierte Arbeit.

Tode eine violette Färbung erkennen. Doch tritt auch bei ihnen der Unterschied zutage, daß intra vitam die rote, post mortem die blaue Farbe entschieden überwiegt, so daß man — wollte man diese Tatsache durch einfache Diffusion erklären — zu mindestens supponieren müßte, daß der Durchtritt des Methylenblaus durch die Bakterien- und Hyphomycetenmembran intra vitam erschwert erscheint. Diese Erschwerung der Diffusion würde aber einer physikalischen Erklärung große Schwierigkeiten bereiten.

Es ist außerdem hinlänglich bekannt, daß das Methylenblau auch bei der gewöhnlichen Verwendungsweise lebende Zellen sehr gut färbt, so daß jede Annahme eines Widerstandes, den ihre Außenschicht dem Methylenblaumolekül entgegensetzen sollte, hinfällig wird. Dasselbe gilt auch von den Bakterien. Milzbrandbazillen, die ich in einem Bouillontropfen auf eine trockene Methylenblauschicht brachte und auf diese Weise gefärbt habe, übertrug ich aus dem Präparate nach einer halben Stunde auf frischen schrägen Agar, und konnte sie so weiterzüchten.

Der Annahme chemischer Vorgänge bei meiner vital-letalen Färbung steht der Umstand entgegen, daß es möglich ist, sowohl eine lebende, wie eine tote Zelle singulär ebenso mit dem Neutralrot, als mit dem Methylenblau zu färben. Wie könnte man da annehmen, daß die differentielle Tinktion: Rotfärbung der lebenden und Blaufärbung der toten Zelle aus dem Gemische der beiden Farbstoffe, auf einer chemischen Grundlage zustande kommt?

Freilich wird die Färbung im Tone einer konzentrierteren Lösung vollendet, als die färbende Flotte war, und dieser Umstand wurde von manchen als ein Zeichen chemischer Bindung des Farbstoffes angesehen. Daß dies nicht immer der Fall ist, beweisen die Versuche von Spiro.[1] Doch haben seine Schlüsse nur für tote Gegenstände Geltung.

Immerhin könnte man noch einen Deutungsversuch im Sinne der physikalischen Färbungstheorie unternehmen, indem man, Overtons Beispiel folgend, van t'Hoffs Theorie der festen Lösungen und das sogenannte Teilungsprinzip Giorgieviczs zu Rate ziehen würde.

Overton[2] hat die Behauptung aufgestellt, daß die Zellaußenschicht nur dann für einen Stoff permeabel sei, wenn er in einem

[1]) Über physikalische und physiologische Selektion. Straßburg 1897.

[2]) Viertelj. d. naturf. Vers. in Zürich. XLIV. 1899.

Gemisch von Cholesterin, Lecithin und Protagon löslich ist. Die genannten Stoffe sollen in der Außenschicht der Zelle stets enthalten sein und haben die Eigenschaft, sehr große Quantitäten von Wasser aufnehmen zu können. Dieser Umstand erklärt die Durchlässigkeit der Zellaußenschicht für das Wasser.

Applizieren wir nunmehr das eben Angeführte auf den Färbungsakt, so haben wir erstens zu erwähnen, daß sämtliche basische Farbstoffe in Cholesterin, Lecithin etc. löslich sind.

Des weiteren habe ich anzuführen, daß Overton ursprünglich der Ansicht war, daß die Farbsalze beim Eindringen in die Zellen durch Hydrolyse, infolge der Einwirkung der schwachen Gewebssäuren, dissoziiert werden und als Basen mit den Säuren der Zellen zu Farbsalzen zusammentreten. Diese chemische Ansicht vom Färbeakte hat Overton nachher[1] geändert und nimmt nunmehr an, daß in vielen Fällen — zu welchen auch die Färbungen mit Neutralrot und Methylenblau gehören — die Farbstoffe als solche in die Zelle aufgenommen werden. Ich glaube diese Behauptung bestätigen zu können. Die Farbstoffe gelangen also durch Diffusion in die Zelle. Es fragt sich nun, auf welche Weise sie die Färbung im Tone einer konzentrierteren Lösung vollbringen.

Nach Overton wird dies durch mechanische Verteilung des Farbstoffes auf die Farbflotte und auf das zu färbende Objekt bewerkstelligt. Der Konzentrationsunterschied des Farbstoffes stammt daher, daß die Substanz der gefärbten Teile für den Farbstoff ein größeres Lösungsvermögen zutage gelegt hat, als das Wasser der Farbflotte. Wie schon erwähnt, schreibt Overton dieses größere Lösungsvermögen der Gegenwart von Cholesterin, Lecithin, Protagon, Cerebrin zu. Zugunsten dieser Ansicht führt er an, daß diese Stoffe, wenn sie in sehr verdünnten Lösungen von basischen Farbstoffen suspendiert werden, die Farbstoffe an sich ziehen.

Dies ist jedenfalls ein bemerkenswertes Resultat. Doch gibt Overton selbst an, daß er nicht zu erklären weiß, wie es kommt, daß sich in Nervenfäden zwar die Achsenzylinder, nicht aber das Mark, welches doch soviel Protagon enthält, mit Methylenblau färben. Auch dafür bleibt die Erklärung aus, wieso das Methylenblau, welches doch in lebende Zellen leicht eindringt, daselbst keine kräftige Färbung entfaltet.

Dem habe ich noch hinzuzufügen, daß auch die intravitalen

[1] Jahrb. f. wiss. Botanik. XXXIV. 1900.

Kernfärbungen auf Grund der Annahme OVERTONS nicht erklärt werden können; einmal treten sie ein, das andere Mal nicht, auch kann die einmal erzielte Kernfärbung wieder zurückgehen, um entweder nie mehr oder später wieder von neuem aufzutreten. Kann da auch ein Cholesterin etc.-Gehalt zur Erklärung herangezogen werden und selbst wenn man einen Wechsel desselben annimmt?

Es scheint also, daß die Erklärung OVERTONS auf allgemeine Gültigkeit keinen Anspruch erheben kann.

Damit will ich jedoch keineswegs bestreiten, daß die Protoplasmasubstanzen den Farbstoffen gegenüber ein großes Lösungsvermögen zutage legen können. Es geht dies ja aus meinen eigenen Versuchen, bei welchen Neutralrotfärbungen lebender Zellen fast momentan vollendet wurden, klar hervor.

Wollte man jedoch das Resultat meiner vital-letalen Färbung nach dem Muster von OVERTON bloß auf das Teilungsprinzip zurückführen, so würde man auf unüberwindliche Schwierigkeiten stoßen.

Man könnte durch dasselbe wohl vielleicht die singulären Färbungen erklären. Wollte man aber das Ergebnis der Färbung mit meinem Gemische durch das Teilungsprinzip erklären, so müßte man vorerst eine Deutung für die Tatsache finden, daß durch Anwendung meines Gemisches die lebende Zelle nur rot, die tote nur blau gefärbt wird, wobei im letzteren Falle die ganze Farblösung abgefärbt erscheint. Ist es etwa zulässig, die Annahme aufzustellen, daß die lebende Substanz nur für das Neutralrot, die tote nur für das Methylenblau Lösungsvermögen aufweist? Selbst wenn wir keinen andern naheliegenden Einwurf berücksichtigen würden, so wäre zu bedenken, daß bei dieser Annahme der Schlußeffekt der Färbung sich in violetter Mischtinktion kundgeben müßte, was jedoch nicht der Fall ist.

Ich möchte an dieser Stelle auch eines schönen Versuches Erwähnung tun, der auf HAMBURGERS[1] Veranlassung von VERSTEEG und DE VRIES ausgeführt worden ist. Durch Vergleichung der Gefrierpunkterniedrigungen einer Farbstoff- und einer Eiweißlösung mit derjenigen eines Gemisches der beiden konnte eruiert werden, daß das Neutralrot mit dem toten Eiweiß keine chemische Verbindung eingeht, während das Methylenblau eine solche bildet.

[1]) Osmotischer Druck etc. Bd. III (St. 423, Anmerkung). Dieser Versuch war mir, wie ich ausdrücklich konstatiere, zurzeit der Ausarbeitung meiner eigenen Versuche noch nicht bekannt und bringe ich ihn erst hier mit den letzteren in Beziehung.

Dieses Ergebnis kann mit meinen Versuchsresultaten in guten Einklang gebracht werden.

Ich habe durch Versuche, in welchen ich ganz geringe Quantitäten Farbstoff mit lebenden Zellen in Berührung brachte, zeigen können, daß Zellen, welche das Neutralrot intra vitam aufgenommen haben, postmortal diese Färbung abgaben, während Zellen, welche intra vitam das Methylenblau nicht aufgenommen haben, sich post mortem mit demselben färbten.

Dieses Resultat wäre im Hinblick auf den obigen Versuch Hamburgers dahin aufzufassen, daß in der letzteren postmortalen Methylenblaufärbung eine chemische Färbung vorliegt. Durch diese Annahme erklärt sich, warum in den Färbeversuchen mit meinem Gemische nie eine postmortale Neutralrotfärbung zustande kam, obwohl das Gemisch äquimolekulär war. Die intravitale Abfärbung des Methylenblaus ist ja auch nicht anders aufzufassen, als ein chemischer Vorgang.

Es handelt sich nunmehr noch darum, den Charakter der vitalen Neutralrotfärbung zu beleuchten. Aus Hamburgers Versuche geht hervor, daß bei der Neutralrotfärbung des toten Eiweißes keine chemische Verbindung zustande kommt. Die Färbung muß also durch physikalische Vorgänge von statten gegangen sein. Dies lassen meine Versuche sehr scharf sehen. Eine während des Lebens durch Neutralrot gefärbte Zelle entfärbt sich, während sie abstirbt. Doch tritt diese Entfärbung, meinen Versuchen gemäß, nur dann ein, wenn man nicht eine relativ zu große Farbstoffmenge verwendet hat. Färbt man in einem relativen Überschusse des Farbstoffes, so tritt bei singulärer Färbung auch eine Neutralrottinktion der toten Zellen ein. Die Abfärbung tritt dann selbst vorübergehend nicht in Sicht.

Färbt man lebende Zellen in einem relativen Überschusse von Methylenblau, so erzwingt man in analoger Weise eine Färbung, doch ist diese Färbung in ihrem Wesen eine physikalische; denn benützt man relativ wenig Farbstoff, so kommt es zu einer Methylenblaufärbung erst nach dem Absterben der Zelle.

Es ist also klar, daß bei der Färbung mit meinem Gemische das elektive Resultat nur auf chemischen Vorgängen beruhen kann. Beide Farbstoffe sind in meinem Gemische in relativem Überschusse vorhanden. Während bei singulärer Färbung unter solchen Umständen eine physikalische Tinktion eintritt, führt die simultane Doppelfärbung mit dem äquimolekularen Gemische zum Ausdrucke der chemischen Vorgänge.

Dies wird durch weitere von mir ausgeführte Versuche und Beobachtungen bekräftigt, welche den Beweis liefern, daß die beiden Farbstoffe in der Zelle gleichzeitig vorhanden sind.

Darauf weisen die nachfolgenden Beobachtungen hin. Der mittelständige Kern ist oft das erste, was sich in einer sonst nur von dem roten Farbstoff gefärbten Zelle blau tingiert; die in den Nahrungsvakuolen sonst gänzlich rot gefärbter Amöben enthaltenen Bakterien sind blau; ein rot gefärbtes Infusorium zeigte, von einem andern gleichfalls rot gefärbten verschlungen, augenblicklichen Wechsel der Färbung ins Blaue; inmitten rot gefärbter Granula erscheinen blau tingierte. Die Farblösung entfärbt sich, so daß bei Schluß des Versuches (d. h. nachdem die Zellen abgestorben sind) sich sowohl der rote, als auch der blaue Farbstoff in den gefärbten Objekten befinden muß.

Bewiesen wird die gleichzeitige Gegenwart beider Farbstoffe in der Zelle durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd. Durch Oxydation des zweiten, in der Zelle enthaltenen, jedoch nicht sichtbaren Farbstoffes — der mit dem sichtbaren komplementär ist — tritt sodann in den Zellen violette Mischfärbung auf.

Somit kann als bewiesen gelten, daß bei Anwendung meines Gemisches in der lebenden Zelle das Methylenblau, in der toten das Neutralrot zwar enthalten, jedoch durch die chemischen Einflüsse des Protoplasmas unsichtbar gemacht worden sind. Wie aus meinen Versuchen hervorgeht, beruht diese Einwirkung des Protoplasmas auf seinen *reduzierenden* Eigenschaften.

Bezüglich meiner weiteren biologischen Ausführungen muß ich auf meine eingangs zitierte Arbeit hinweisen. An diesem Orte wollte ich nur jene Resultate hervorheben, welche sich auf die Theorie der vitalen histologischen Färbung beziehen und zum ersten Male zeigen, daß die *Neutralrotfärbung der lebenden Zelle ein chemischer Vorgang ist, während die Methylenblaufärbung der lebenden Zelle zwar ein vitales Phänomen ist, aber auf physikalischer Grundlage beruht.*

[Eingegangen am 28. Februar 1905.]

Nuovo metodo per attaccare i tagli fatti da pezzi inclusi in celloidina.

Per il

Dr. Di Cristina.

Dato che con le nuove manipolazioni proposte da Apáthy, si possono ottenere sezioni sottillissime a cominciare da tre μ, si presenta di nuovo la questione dell'appicicatura dei tagli. Due gravi incovenienti presenta adesso l'inclusione in celloidina: 1^0 Che alcuni organi come intestino, stomaco in sezioni sottili non resistono alle manipolazioni di colorazione, disidratazione guastandosi. 2^0 Le sezioni in celloidina non attaccate al portaoggetti, non possono essere disidratate convenientemente, perchè la celloidina negli alcool forti si discioglie, rovinando cosi' le sezioni. —

Ho cercato di ovviare a questo inconveniente servendomi di un metodo semplicissimo di appicciatura dei tagli sul vetrino portaoggetti. Questo metodo permette anche la preparazione dei tagli in serie in modo semplicissimo. Il procedimento è il seguente: Le sezioni fatte se sono già colorate in massa vengono trasportate in acool a 94^0 però devono qui soggiornare il meno possibile, se non sono colorate possono essere colorate prima di attaccarle, e come ultimo vanno trasportate in alcool a 94^0, qui semplicemente devono restare un tempo brevissimo.

Si preparano prima dei vetrini portaoggetti, su cui si spalma uno strato di albumina glicerinata cosi composta:

Albumina d'uovo parti 5, Glicerina neutra parti 1a.

Con una striscia di carta bibula introdotta nella vaschetta contenente le sezioni, si cerca di prendere le sezioni in modo però che esse vengono distese sulla carta senza far pieghe. Quindi si tira la carta per un estremo facendo in modo che le sezioni vi rimangano attaccate. Questa striscia di carta si adaggia dal lato ove stanno distese le sezioni, sul vetrino portaoggetti gia spalmato di albumina, sù di essa si adaggiano altre striscie asciutte e si preme un pò col palmo delle dita finchè i tagli restano distesi. — Per l'azione coagu-

lante dell'alcool sull'albumina i tagli restano appiccinati solidamente. — I tagli così trattati possono essere sottoposti a tutte le manipolazioni, ed infine se ne può allontanare la celloidina coll'alcool assoluto senza che il preparato subisca delle alterazioni. — Le sezioni attaccate vanno trasportate subito in alcool assoluto. Si deve però badare che l'albumina glicerinata contenga molta albumina, poichè se predomina nella soluzione in suo luogo la glicerina, il metodo non riesce.

Berlin, 26. März 1905.

[Eingegangen am 29. März 1905.]

Eine Sperrvorrichtung für mikroskopische Demonstrationen.

Von

Alfred Fischer
in Basel.

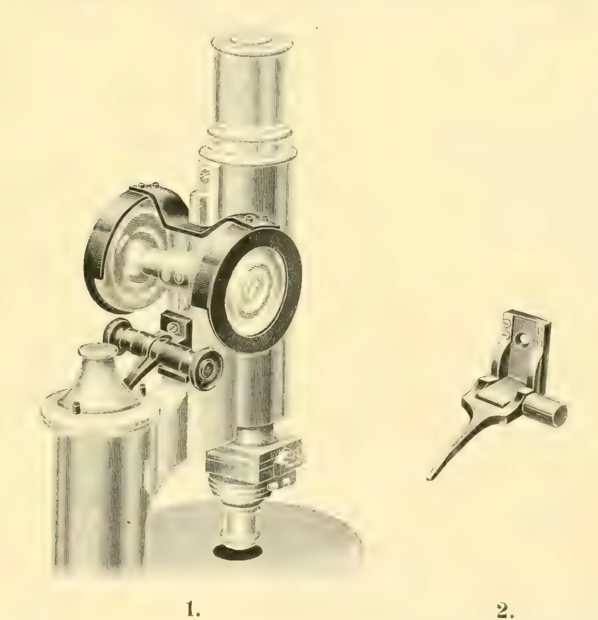
Hierzu zwei Holzschnitte.

Jeder, der mikroskopische Präparate zu demonstrieren hat, kennt den Übelstand, daß Unerfahrene die Mikrometerschraube nicht sachgemäß benutzen und auch gelegentlich den groben Trieb mißbrauchen. Die Einstellung wird gestört, die Präparate werden zerquetscht.

Auf der Städteausstellung 1903 in Dresden war eine große Zahl Mikroskope aufgestellt, mit denen jedermann Bakterienpräparate, die durch besondere Vorkehrungen an den Mikroskopen völlig geschützt waren, betrachten konnte. Jeder neu Hinzutretende konnte sich mit der partiell gesperrten Mikrometerschraube das Bild selbst wieder einstellen. Die dort verwendeten Einrichtungen, die für wissenschaftliche Demonstrationen zu kostspielig und zum Teil überflüssig sein würden, erweckten in mir den Wunsch, auf einfachere Weise dem allbekannten Übelstande abzuhelfen. Mit wesentlicher Unterstützung des Herrn Mechaniker Dürrenberger in Basel habe

ich eine solche Einrichtung für ein größeres Stativ, etwa ZEISS No. Ia, zusammengestellt.

Auf wohlfeile Art kann man die grobe Einstellung durch Kapseln aus steifem Karton verdecken. Figur 1 zeigt eine elegantere Einrichtung, die eine Verkoppelung und Vereinfachung der von ZEISS gelieferten Schutzhülsen für die grobe Schraube ist. Diese ZEISSschen Hülsen müssen in zweimal 2 besondern Handgriffen über die beiden Schraubenknöpfe geschoben werden. Jede dieser Hülsen besteht aus zwei ineinander passenden Ringen: man muß erst den einen



1. 2.

In einer Photographie des montierten Mikroskopes sind die beiden Teile der Schutzeinrichtung nachträglich schärfer hervorgehoben. Der heruntergeklappte Sperrzeiger liegt zwischen dem rechts sichtbaren und dem vom Schraubenkopf verdeckten dritten Stift.

Figur 2 ist das einfachere Modell des Sperrzeigers, rechts und links sieht man die Federn.

(Photographiert und gezeichnet von Herrn Dr. Th. FRANK.)

Ring über den Knopf schieben und dann den zweiten Ring aufsetzen. Da die beiden Ringe fest aufeinanderpassen müssen, damit die Hülse gut zusammenhält, so geht dieses Aufsetzen der Hülsen keineswegs schnell und auch nicht ohne Verschiebung der Einstellung vor sich. Die gekoppelten Hülsen, die ich hier vorschlage, werden mit einem

einzigen Griff aufgesetzt und verdecken die Schraubenknöpfe so vollständig (Fig. 1), daß nicht mehr daran gedreht werden kann.

Je nach der Form des Stativs, der Ansatzhöhe des Triebes und anderem wird die Verkoppelung der Hülsen verschieden vorzunehmen sein. Die Figur zeigt das Modell für ein Zeisssches Stativ. An dem Schraubenknopf rechts hebt sich schwarz ein Metallring von 4·4 cm Gesamtdurchmesser, ca. 3 cm im Lichten ab. Der aus geschwärztem Messingblech hergestellte Ring ist etwa 7 mm breit und trägt einen nicht den ganzen Umfang einnehmenden 8 mm hohen Aufsatz, der so angebracht ist, daß er etwa $^2/_3$ des Schraubenknopfes von oben verdeckt (Fig. 1 links und rechts). Diese beiden Ringe sind durch einen Metallsteg, dessen Länge aus der Distanz der Schraubenknöpfe sich ergibt, verkoppelt. Die Koppelung trägt an der Tubusseite eine Rinne, deren Form genau dem Querschnitte der Führungsleiste für die Triebstange entspricht und so weit ist, daß bequem übergeschoben werden kann. Außerdem ist die Koppelung in der Mitte, wo die Rinne eingeschnitten ist, nach abwärts eingeknickt, damit sie auf dem kleinen Vorsprung des Stativs (Fig. 1) aufliegt.

Für die Sperrung der Mikrometerschraube empfiehlt sich folgende Einrichtung. Auf den Schraubenknopf (Fig. 1) werden in gleichen Abständen eine Anzahl, etwa 4 mm hoher Metallstifte, deren Distanz durch die Feinheit der Schraube bedingt ist, eingesetzt. Wenn diese bei einer Umdrehung $^1/_4$ mm leistet, so genügen 2 oder 3 solcher Stifte, bei älteren Stativen mit gröberer Schraube 4 oder 5, je nach Belieben.

An jener Stelle des Stativs, die den Zeiger für die Ablesung der Schraube trägt, wird ein zurückklappbarer Zeiger eingesetzt, der auf den Schraubenknopf heruntergeklappt zwischen den Stiften liegt und die Drehung der Schraube nur so weit gestattet, bis er an einen der Stifte anschlägt. Der Zeiger muß zwar etwas kräftiger sein als der Ablesezeiger, kann aber doch noch so dünn bleiben, daß er auch für nicht allzu feine Ablesungen verwendet werden kann.

Für diesen Sperrzeiger sind zwei Modelle abgebildet. In Figur 1 wird der Zeiger mit dem Schräubchen rechts umgeklappt, mit dem links festgestellt. Diese Einrichtung ist sehr zuverlässig und gestattet dem Beobachter nicht, die Sicherung abzustellen. Das andere Modell (Fig. 2) ist einfacher und genügt im allgemeinen. Der Zeiger wird mit dem Schräubchen rechts herausgeklappt und durch zwei Federn in dieser Stellung gehalten. Verwendet man diese einfachere

Sicherung, so muß man allerdings die Hörer darum bitten, diesen Zeiger nicht heraufzuklappen, sondern nur an der Mikrometerschraube zu drehen, bis sie anstößt.

Das Präparat wird wie üblich eingestellt, der Sperrzeiger heruntergeklappt und die Sicherung für den groben Trieb aufgesetzt. Eine kleine Aufmerksamkeit ist vorher notwendig. Sollte der Sperrzeiger zu nahe an einen der Stifte herangekommen sein bei der Einstellung mit normalsichtigem Auge, so würde für die beiden Extreme der fehlerhaften Augen der Spielraum zu ungleich sein. Man achte darauf, daß bei normaler Einstellung der Zeiger etwa in der Mitte zwischen zwei Stiften steht.

Ist dies nicht sogleich zufällig erreicht, so klappt man den Zeiger wieder herauf, hebt mit der groben Einstellung den Tubus eine Spur, stellt mit der Mikrometerschraube wieder genau ein und klappt den Sperrzeiger wieder herunter. Vielleicht wird noch einmal diese Nachhilfe zu wiederholen sein, bis der Zeiger die gewünschte Stellung hat. Wer diese kleine Nachhilfe möglichst vermeiden will, der lasse in den Knopf der feinen Mikrometerschraube mit $^1/_4$ mm Umgang nur zwei Stifte einsetzen. Aber selbst bei drei Stiften (Fig. 1) ist diese kleine Einstellungskorrektur so einfach und für den geübten Mikroskopiker so leicht, daß es kaum der Mühe lohnt, darüber zu reden. Ich brauche seit einem Jahr dreistiftige Sicherungen ohne jede Beschwerde.

Sobald die Mikrometerschraube mit guter Mittellage des Sperrzeigers eingestellt ist, werden die gekoppelten Hülsen über den groben Trieb geschoben und damit ist das Präparat völlig geschützt. Die Mikrometerschraube kann weder zu hoch, noch zu tief, bis zum Zerquetschen des Präparates, gedreht werden, sondern bei drei Stiften nur um $^1/_6$ Umgang, bei 2 um $^1/_4$ nach auf- und abwärts. Jeder neue Beobachter kann und muß innerhalb dieser Grenzen die scharfe Einstellung des Präparates finden.

Ich erwähne, daß die feinsten Bakterienpräparate ganz Ungeübten so demonstriert werden können und daß einige Mikroskopiker, die diese Schutzeinrichtung kennen lernten, sofort von deren Brauchbarkeit überzeugt waren.

Ich habe diese kleine Konstruktion vor einiger Zeit der Firma Zeiss vorgelegt, die mit größter Bereitwilligkeit mir ihre eigenen entsprechenden Einrichtungen zur Ansicht schickte. Über die von Zeiss gelieferten Hülsen für die Knöpfe des groben Triebes wurde schon gesprochen, die Sperre für die Mikrometerschraube muß über

deren Knopf hinweggeschoben werden und ist nicht so bequem zu handhaben wie die hier vorgeführte Zeigersperrung.

Leider lehnte es die Firma Zeiss ab, mein Modell auszuführen. Da ich von der Brauchbarkeit meines Vorschlages nach wie vor überzeugt bin, so gebe ich die Einrichtung hiermit allgemein bekannt, in der Hoffnung, daß sie vielen Kollegen recht gute Dienste leisten wird. Die Herstellung ist so einfach, daß jeder Feinmechaniker sie in kurzer Zeit ausführen kann.

[Eingegangen am 25. Februar 1905.]

[Aus dem pathologischen Institut der Universität (Obermedizinalrat Prof. Dr. v. Bollinger) und der Prosektur des Krankenhauses rechts der Isar in München (Prof. Dr. Schmaus).]

Beiträge zur Technik und Methodik der mikroskopischen Doppelsäge.

Von

Dr. Georg Arndt

Assistenzarzt an der Königl. chirurg. Klinik in Erlangen, ehem. Volontärassistent des Instituts.

Hierzu 5 Holzschnitte.

Nach der vor fast vier Jahren erfolgten Veröffentlichung meiner Doppelsäge [1] ward mir erst spät die Gelegenheit zum weiteren Ausbau der Methode zu teil. Das möge erklären, weshalb in den folgenden Beiträgen erst ein Teil von dem vorliegt, was als nächster Programmpunkt gelten mußte, der allein der Verbesserung des Instrumentariums und der Methodik gewidmet war. Die in der ersten Arbeit niedergelegten Anweisungen für die Behandlung und den Gebrauch des inzwischen an zahlreichen Instituten eingeführten Instru-

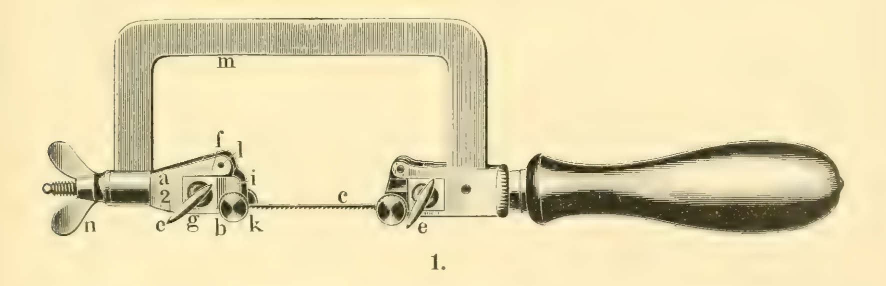
---

[1]) Präzisionssäge zur Herstellung mikroskopischer Präparate harter Substanzen (Diese Zeitschr. Bd. XVIII, 1901, p. 146—159).

ments haben sich mir und anderen auch weiterhin, selbst bei der Bearbeitung von anscheinend ungeeigneten Objekten bewährt. Es sei aber betont, daß wie für jede andere mikroskopisch-technische Methode, so auch für die Doppelsäge untadelhafte Beschaffenheit des Instruments und der Sägeblätter, sowie Vertrautheit mit den genannten Vorschriften die natürliche Voraussetzung für ihre erfolgreiche Anwendung bilden.

a. Verlängerung der wirksamen Sägefläche.

Für die Bearbeitung breiter und umfangreicher Objekte, besonders aber auch für die Sicherheit und Schnelligkeit des Sägens ist die Spannweite der Sägeblätter von erheblicher Bedeutung. Der



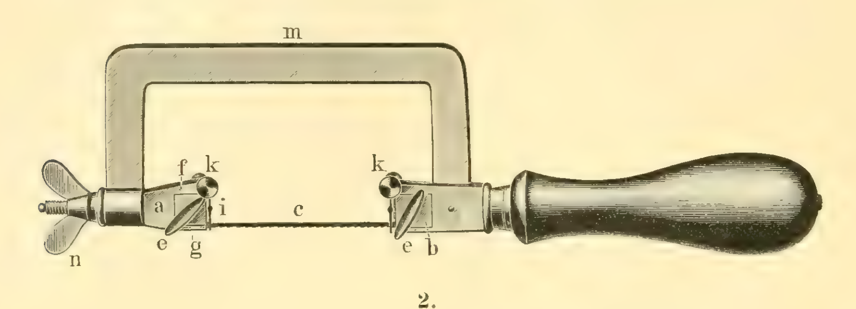
1.

freie Spannraum der Doppelsäge ist nun mit 6·5 cm für die wichtigsten Zwecke zwar hinreichend weit getroffen, doch können von diesem Maße höchstens 4·5 cm benutzt werden, weil die Vorrichtungen, welche zum Einstellen des gegenseitigen Abstandes der Sägeblätter herunterklappbar angebracht sind, an jeder Seite fast 1 cm fortnehmen (cf. Fig. 1, Darstellung der Doppelsäge mit der a l t e n Stellvorrichtung); auch der verbleibende Raum ist nur mit der Vorsicht zu benutzen, daß beim Sägen die Stellschrauben *k* nicht gegen Objekt oder Schraubstock stoßen dürfen, soll nicht die genaue Einstellung der Schnittdicke verloren gehen.

Da die Spannweite für unsere Mailänder Metallsägen nur unter der Gefahr vergrößert werden kann, daß ihre straffe Spannung, Einstellung und Festigkeit Einbuße leidet, so konnte nur von der Veränderung der Stellvorrichtung eine Ausnutzung der verfügbaren Spannweite erhofft werden. Es wurden daher die Stellschrauben *k*, die bisher direkt auf die Sägeblätter wirkten, weiter nach oben

verlegt und durch eine gelenkige Vorrichtung mit den Sägen in Verbindung gesetzt.

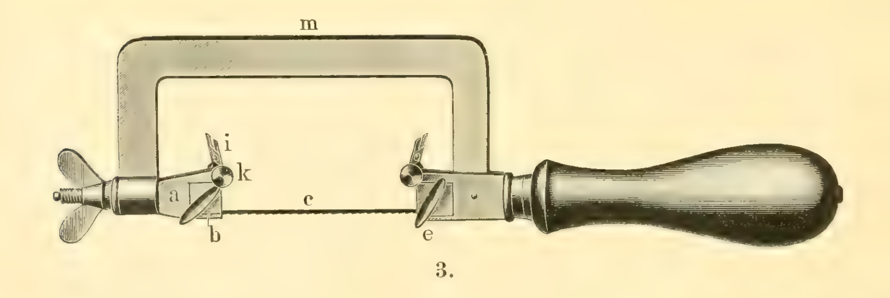
Figur 4 zeigt diese Vorrichtung in natürlicher Größe von vorn. Figur 2 und 3 die damit ausgerüstete neue Säge von der Seite, und zwar Figur 2 mit gebrauchsfertig heruntergeklappter, Figur 3



2.

mit hochgedrehter Stellvorrichtung. Die Buchstabenbezeichnungen der vier ersten Figuren entsprechen einander.

Die Stellschrauben *k* sind in Muttergewinden der Fortsätze *f* (s. Fig. 2 u. 4) des Sägenteiles *a* gelagert — mit *a* sind die festen, mit *b* die beweglichen Klemmbacken bezeichnet, welche, durch die Schraube *e* zusammengepreßt, die Sägen *c* zwischen sich fassen. —



3.

Durch Rechtsdrehung der Stellschrauben *k* werden die bei *p* miteinander gelenkig verbundenen Branchen i_1 und i_2 einer gut verstählten zangenartigen Vorrichtung einander genähert und wirken gleichzeitig distanzevermindernd auf die Sägen *c*, *c* (in Fig. 4 im Querschnitt getroffen), welche, wie beim alten Instrument, durch dünne, innerhalb der Klemmbacken *a* und *b* zwischen den Sägeblättern eingepreßte Stahlplatten in einem maximalen gegenseitigen

Abstand gehalten werden. Um den hierdurch gesetzten Widerstand gegen den Druck der Branchen zu verringern, ist jedes der beiden Stahlplättchen an seinem vorderen Rande, entsprechend der Austrittstelle der Sägeblätter, mit einer 2 mm² messenden Auskehlung versehen worden. Da jede der Branchen i_1 und i_2 kaum 0·1 cm dick ist und dem Sägenteil *a* fest anliegt,[1] so gehen von der Spannweite der Sägen insgesamt nur 0·2 cm verloren, es bleiben also 6·3 cm verfügbar. Als weiterer Vorzug gegenüber der alten Säge kommt in Betracht, daß Stöße gegen die Branchen, wie sie beim schnellen Sägen vorkommen, die Genauigkeit der Einstellung nicht stören. Die neue Stellvorrichtung kann auch an der alten Säge angebracht werden. Der Preis für diese Änderung stellt sich auf 10 Mark.

4.

b. Methodik.

Die Beantwortung der in der ersten Veröffentlichung der Doppelsäge gestellten Frage, ob frische, feuchte Objekte bessere Schnitte ergeben als trockene, habe ich, außer an Wirbeltierknochen und -zähnen verschiedener Herkunft und Vorbehandlung, auch an pflanzlichen Hartgebilden geprüft, möchte aber, bei dem verhältnismäßig geringen Umfang des letztgenannten Materials, das folgende Urteil vorwiegend auf tierische Hartgebilde beziehen.

Die damals mitgeteilte vereinzelte Beobachtung, daß Präparate von frischen, spongiösen Knochen weit besser gelangen als solche von gleichartigen macerierten Objekten, ist auch später durch zahlreiche vergleichende Versuche bestätigt worden. Das gleiche gilt für die kompakte Knochensubstanz, während Zement und Dentin keinen Unterschied, ob feucht oder trocken geschnitten, erkennen ließen. Knochen, die in Sublimat, Formalin (10 Prozent) oder Alkohol konserviert waren, boten gegenüber frischen Knochen keinen Unterschied. Röhrenknochen von Neugeborenen und fötale Knochen eines Falles von sogenannter fötaler Rachitis, die ³/₄ bis 1 Jahr in Formalin gelegen hatten, schienen mir aber an Konsistenz erheblich

[1]) In Figur 2 sind die Stellvorrichtungen *i* nur der größeren Deutlichkeit halber mit einem gewissen Abstand vom übrigen Sägenkörper gezeichnet worden.

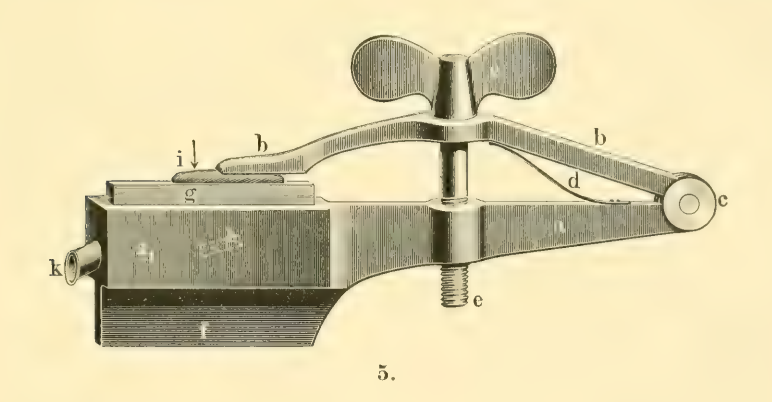
abgenommen zu haben und ließen weniger dünne Schnitte zu als im frischen Zustande. Analog den Erfahrungen, die man an KAISERLING-Präparaten mit dem Verschwinden von harnsauren Niederschlägen in Organen gemacht hat,[1] dürfte in unserem Falle die aus dem Formalin sich bildende Ameisensäure die Entkalkung und Konsistenzverminderung der jungen Knochen bewirkt haben. Da es WESTENHOEFFER durch Einbringen von Quecksilberoxyd (zwischen Fließpapierscheiben am Boden des Gefäßes und in einem Stoffbeutel) in das Gefäß mit der III. KAISERLINGschen Flüssigkeit gelungen ist, die Bildung der Ameisensäure für lange Zeit unschädlich zu machen, so empfiehlt sich dasselbe Vorgehen auch für die Konservierung von Knochen in allen Fällen, wo die Aufbewahrung in Alkohol nicht bevorzugt wird.[2] Das Vergleichsmerkmal für die Beschaffenheit feucht oder trocken gefertigter Präparate bot nicht die geringste erreichbare Schnittdicke allein, sondern gleichzeitig die Ausdehnung der Schnitte und der Mangel an Artefakten. Im allgemeinen konnten letztere, d. h. Sägerillen, Risse, Abreißungen feiner Bälkchen und Lamellen, an feucht konservierten oder frischen Schnitten weit seltener als an macerierten, trockenen in störendem Maße beobachtet werden. Querschnitte z. B., die von macerierten langen Röhrenknochen oft dünner als von frischen oder feucht konservierten Stücken zu erhalten sind, stehen doch an Vollkommenheit hinter diesen zurück. Längsschnitte lassen sich aus frischen oder feucht konservierten Röhrenknochen stets mindestens ebenso dünn als von macerierten herstellen.

Für die Herstellung lebensfrischer Präparate, für die die Schnelligkeit der Sägemethode besonders ins Gewicht fällt, zeigte es sich zweckmäßig, die Schnittstelle und die Sägen während des Schneidens fortwährend von physiologischer Kochsalzlösung berieseln zu lassen, einerseits, um die Austrocknung des dünnen Präparatblättchens zu verhüten, anderseits, um die Sägeblätter, die sich sonst erhitzen würden, ständig kühl und leicht gleitend zu erhalten. Die Temperaturerhöhung der Sägen — für die übrigens meines Erachtens neben der äußeren noch die innere, aus den Zug- und Druckbeanspruchungen der Sägeblätter und ihrer Zähne hervorgehende Reibung in Betracht kommt — kann den vitalen Zustand des Gewebes verändern, aber auch durch

[1]) WESTENHOEFFER, Salkowski-Festschrift, Berlin 1904.

[2]) „Sehr schön werden auch Knochen konserviert, besonders Rachitis und Syphilis.“ WESTENHOEFFER, l. c.

ererhöhte Quellung der nächsten Umgebung der Sägen die Arbeit des Sägens selber erschweren. Letzteres habe ich an feucht konservierten Knochen und botanischen Objekten auch dadurch verhindern können, daß ich während des Sägens Glyzerin mit einem Pinsel nicht zu sparsam auf die Schnittstelle tropfen ließ. Bespülung der Schnittfläche mit reichlich Wasser oder der konservierenden Flüssigkeit scheint dem Schneiden unter Glyzerin gleich zu kommen.[1] Zum Auffangen der Flüssigkeit genügt ein zwischen die Wangen des Schraubstocks gestecktes Tuch, welches gleichzeitig zur Ableitung in ein am Boden stehendes Gefäß dient. Ist das Objekt in der unten beschriebenen Schraubkluppe (Fig. 5) fixiert, so findet die Flüssigkeit in dem Kasten a_1, der nicht, wie auf der Abbildung,



5.

von dem Holzblock *g* völlig ausgefüllt wird, Raum zum Sammeln und fließt durch ein Loch in der Stirnwand des Kastens und den Rohrstutzen *k*, der zweckmäßig einen Gummischlauch als Fortsetzung erhält, ab. Da es beim Sägen von Vorteil ist, die Finger der linken Hand gegen das Objekt oder den Schraubstock zu stützen, sei es, um Vibrationen des ersteren zu dämpfen oder die Schnittführung sicherer zu gestalten, so ist für die Berieselung der Schnittstelle entweder Assistenz nötig oder eine der einfachen Vorrichtungen, wie sie zur Bespülung des Mikrotommessers beim Schneiden von Celloïdin-

---

[1]) Daß die Sägeblätter nach jedem Gebrauche gereinigt werden müssen, gilt, des Rostens wegen, besonders für Formalinschnitte: man reinigt die Sägen am besten im gespannten Zustande mit einem Wasserpinsel und trocknet sie durch Zwischenziehen eines Streifens Fließpapier.

stücken zahlreich angegeben, entweder kontinuierlich oder durch Druck auf einen Gummiball (vom Fuß) zu betätigen sind.

Wer die Doppelsäge oft benutzt, empfindet die Berieselung auch als sicheren Schutz gegen die Einatmung des Sägestaubes wohltätig. Aus diesem Grunde, dann aber auch, um die Brüchigkeit der entstehenden Präparatblättchen zu mindern und die Gleitfähigkeit der Sägeblätter zu erhöhen, empfahl es sich, auch trockene und macerierte Gewebe, besonders wieder Knochen, mit Glyzerin oder nicht zu dünnem Zedernöl an der Schnittstelle zu tränken. Meistenteils verdiente das Sägen mit „Schmierung" den Vorzug, es ging leichter, ohne Staubentwicklung von statten und behütete zweifellos manches Präparat vor dem vorzeitigen Ablösen.

Für die Herauslösung des fertig gesägten Blättchens war in der ersten Veröffentlichung die Wahl gelassen worden, es entweder so abzulösen, „wie man es mit Doppelmesserschnitten zu tun pflegt, indem man das Instrument etwas nach links und rechts herüber biegt, während man einige Sägebewegungen ausführt", oder so, daß man die Säge „vorsichtig heraushebt, mit dem Taschenmesser in eine Schnittfurche eingeht und das Präparat an der Haftstelle abknickt". Das erste der beiden Verfahren hat sich für Präparate von zartem Gefüge als unzweckmäßig herausgestellt; nur dicke und wenig umfangreiche Schnitte leiden keine Gefahr dabei. Statt eines Taschenmessers bedient man sich beim zweiten Verfahren, besonders dort, wo es sich um tief gehende Schnittfurchen handelt, besser eines dünnen, scharfen Skalpells; ist der Schnitt an seiner Haftstelle sehr dünn, so genügt auch ein dünner, aber kräftiger Metallspatel zum Abknicken.

Das Herausheben der Säge aus den Schnittfurchen kann bei breiten, tiefen Schnitten Schwierigkeit machen und zum Zerreißen des Präparates führen; das läßt sich leicht dadurch verhüten, daß man das ganze Stück samt der festsitzenden Säge aus dem Schraubstock nimmt, und dann erst mit größerer Freiheit, die Säge heraushebelt.

Zum Einschluß des Dauerpräparates dient mir Canadabalsam (sc. harter) nur für Präparate mit Lufteinschluß, die das Verhalten der Knochenlacunen und ihrer Kanälchen zeigen sollen. Da die wichtigste Vorbedingung für die Haltbarkeit der Präparate ihre Trockenheit ist, so sei im Hinblick auf das oben empfohlene Feuchtschneiden darauf hingewiesen, daß so hergestellte, an der Luft getrocknete Schnitte in Canadabalsam nach längerer oder kürzerer Zeit mehrfach trübe wurden; an Präparaten, die $^1/_2$ Stunde in

absolutem Alkohol (im Brutschrank bei 37°), dann kurze Zeit in Äther zugebracht hatten und nach dessen Verdunstung in flüssig gemachten Canadabalsam eingebracht worden waren, ist Trübung nicht beobachtet worden. Zur Konservierung von Schnitten, die nicht sofort mikroskopiert werden sollen, ferner zum Studium von Struktur- und Übersichtsbildern, Einschlüssen der knöchernen Hohlräume ist der Glyzerineinschluß an die erste Stelle zu setzen. Völlig säurefreies Glyzerin dürfte im Handel kaum zu haben sein; für die Gefahrlosigkeit des sehr geringen Säuregehaltes spricht jedenfalls der Umstand, daß zahlreiche Knochen- und Zahnpräparate, die ich seit vier Jahren in Glyzerin eingeschlossen aufbewahre, keinerlei Spuren von Säurewirkung zeigen. Schnitte von macerierten Knochen werden vom Glyzerin weit schneller aufgehellt als solche von frischen oder feucht konservierten. Dicke Übersichtspräparate der letzteren Art können schneller aufgehellt werden, wenn man die Schnitte vom Wasser (das Abpinseln des Sägemehls geschieht am besten unter Wasser) nicht direkt in Glyzerin, sondern zunächst für einige Stunden in eine Mischung von Wasser und Glyzerin zu gleichen Teilen bringt und auch des weiteren, bis zum Verbringen in reines Glyzerin, den Glyzerinanteil der Mischung nur allmählich steigen läßt.

Was das Anwendungsgebiet der Doppelsäge betrifft, so lag mir ihre Nutzbarmachung für das Gebiet der pathologischen Anatomie besonders nahe. Hierbei zeigte sich, daß auch von solchen Objekten, deren lockeres Gefüge die unmittelbare Bearbeitung auf dem Schleifstein gänzlich ausschließt oder nur in beschränkter Größe zuläßt, mit der Doppelsäge noch große Übersichtsschnitte gelangen. Als Beispiel eines Objektes von ungleichartigem, teilweise lockerem Gefüge können die Knochen des Schädeldaches dienen; schneidet man solche frischen oder feucht konservierten Schädelknochen, deren Markhypertrophie vermehrte Knochenbildung vortäuschte, so wird, wer mit Vorsicht gesägt hatte, oft überrascht durch die Beobachtung, daß selbst weitmaschige Netzwerke von feinsten Spongiosa-Bälkchen meist erhalten geblieben sind. Auch von solchen pathologischen Objekten, bei denen eine Abnahme des Kalkgehaltes, wie bei osteomalacischen Knochen, oder eine hochgradige Auflockerung sämtlicher Lamellensysteme, nebst Erweiterung und Deformierung der Haversschen Kanäle und ausgedehnte Volkmannsche Kanalikulation im Vordergrund standen, wie ich sie in einem Falle von Akromegalie[1]

---

[1]) Worüber an anderer Stelle berichtet werden soll.

und — teilweise — an Sequestern osteomyelitischen Ursprungs reichlich beobachten konnte, ließen sich unschwer instruktive Quer- und Längsschnitte anfertigen.

Zur Gewinnung entkalkter Knochenpräparate war die Doppelsäge mehrfach in denjenigen Fällen von Nutzen, wo eine beschleunigte Untersuchung erwünscht war. Man schneidet bei hochgeklappter Stellvorrichtung Knochenplättchen von ca. 0·3 bis 0·5 mm Dicke; solche Plättchen sind leicht in großer Ausdehnung auch von stark spongiösem Material zu gewinnen; sie können in kurzer Frist entkalkt und in Celloïdin eingeschlossen oder gleich auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden. Ist für einen genau ebenen Einschluß und richtige Orientierung gesorgt worden, so läßt sich immer eine Anzahl feiner Mikrotomschnitte gewinnen, die in der üblichen Weise weiter behandelt werden.

c. Schraubkluppe.

Der Mangel an brauchbaren Vorrichtungen zur sicheren Befestigung sehr kleiner oder platter oder zarter Objekte zwecks Bearbeitung mit der Doppelsäge machte mir die Konstruierung eines Hilfsmittels nötig, das technisch zur Gruppe der „Kluppen“ gerechnet werden kann, seiner Form nach aber sich weit von ihnen entfernt und daher besonders beschrieben sei:

Ein kräftiger schmiedeeiserner Arm *a* (Fig. 5) von 12 cm Länge geht an dem einen Ende in den viereckigen länglichen Kasten a_1 über, an dessen Stirnwand das Abflußrohr *k* (s. o.) angebracht ist. Der Innenraum des Kastens wird größtenteils von dem aus weichem Holz gefertigten Holzblock *g* eingenommen, dessen rauher Querschnitt horizontal liegt und den oberen Kastenrand um 0·5 cm überragt. Die auf der anderen, auf der Figur nicht sichtbaren Seitenfläche des Kastens angebrachte, punktiert gezeichnete Schraube *h* dient zur Befestigung des Blockes. Der vom Boden des Kastens ausgehende Fortsatz *f* kann in Schraubstöcke beliebiger Art und Größe horizontal eingespannt werden. Das andere Ende des Armes *a* ist durch ein Scharniergelenk *c* mit dem beweglichen Arm *b* verbunden, der durch eine mit breitem, kräftigem Flügelgriff versehene Schraube *e*, entgegen dem Widerstand einer Feder *d*, dem festen Arm *a* genähert werden kann. Das freie Ende des Armes *b* reicht bis zur Mitte des Blockes *g*, ist abgeplattet, stark verbreitert und an seiner Unterfläche

gezähnt. Die Zahnung verhindert auch ohne Anwendung starken Druckes, daß ein zwischen *b* und den Holzblock *g* festgespanntes Objekt *i* beim Sägen (die Schnittstelle ist durch einen Pfeil angedeutet) seitlich ausweicht. Der Holzblock kann natürlich beliebige Form erhalten, am einfachsten lassen sich weiche Celloïdinklötze zustutzen; für Schnitte von schmalen, rundlichen oder hochkantigen Objekten, z. B. Querschnitte von jugendlichen Röhrenknochen, wurde der Holzblock mit einer längs, in der Ebene der Zeichnung, verlaufenden Rinne versehen, in der das Objekt mit großer Sicherheit und Schonung gegen seitliche Verschiebung durch den Arm *b* festgehalten wird. Die Holzunterlage gestattet, was besonders an Querschnitten von platten Objekten, z. B. Knochenplatten der Dura mater, angenehm empfunden wird, auch die untersten Schichten des Objekts mit in den Bereich des Schnittes zu ziehen; der Holzblock wird dabei zwar mitgeschnitten, schädigt aber die Sägen nicht.

Herstellung und Vertrieb der neuen Doppelsäge und Schraubkluppe erfolgt wie bisher durch die Fabrik chirurgischer Instrumente von J. Thamm in Berlin NW., Karlstraße 14.

[Eingegangen am 17. Februar 1905.]

Die Leitzsche Dunkelfeldbeleuchtung bei Verwendung der homogenen Ölimmersion.

Von

Carl Metz
in Wetzlar.

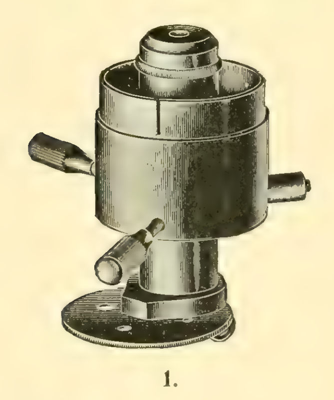
Hierzu vier Holzschnitte.

Nach der Einführung eines Beleuchtungsapparates am Mikroskop, bestehend aus Spiegel und Kondensorlinsen, welchen wir den Engländern Wollaston, Goring und Brewster verdanken, findet sich schon eine von Reade um 1837 angegebene Einrichtung für Dunkelfeldbeleuchtung erwähnt (s. Harting-Theile, Das Mikroskop, 2. Aufl., I, p. 245). Eine Reihe von Vorrichtungen zur Erzielung der Dunkelfeldbeleuchtung findet sich in der Folge erwähnt. Am meisten führten sich die Zentralblenden ein. Es wird durch diese bekanntlich der zentrale Teil des Kondensors bis zur Öffnung des Objektives abgeblendet und die Beleuchtung durch die Randstrahlen des Kondensors, deren Apertur höher ist als die des Objektives, bewirkt. Ein Eindringen der direkten Lichtstrahlen in den Bildraum bleibt dadurch ausgeschlossen. Diese Blendung war zulässig, solange man nur mit Trockensystemen arbeitete, deren Apertur wesentlich kleiner ist als die des Kondensors. Anders verhält es sich, wenn man sich der Ölimmersion bedient. Die Apertur dieses Objektives und die des gebräuchlichen Kondensors ist gleich. Es bieten sich zwei Wege, eine Dunkelfeldbeleuchtung bei Anwendung der Ölimmersion zu erzielen. Entweder benutzt man einen Kondensor von erheblich höherer Apertur als 1·30 und blendet die zentralen Lichtbündel bis zu der Apertur der Immersion ab, oder man verzichtet auf einen Teil der Öffnung der Immersion und benutzt die ausgeschaltete Apertur des Objektivs zur Beleuchtung. Es lassen sich hierzu zwei Wege einschlagen: man benutzt die höhere Apertur zur Beleuchtung und bedient sich des inneren zentralen Lichtkegels zur Beobachtung (s. diese Zeitschr. Bd. XV, 1898, p. 289 ff.), oder man beleuchtet

mit einem inneren Lichtkegel und schaltet ihn bei der Beobachtung aus. In dieser Weise ist die hier mitgeteilte, in der optischen Werkstätte von E. Leitz in Wetzlar ausgeführte, Einrichtung zustande gekommen.

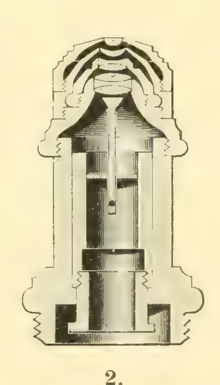
Da das Licht der Sonne oder einer Bogenlampe von nicht unter 8 Ampère Stärke zur Verwendung vorgesehen ist, so kann der innere Beleuchtungskegel dünn werden: eine starke Abblendung des Objektives und ein größerer Verlust an auflösender Kraft wird dadurch nach Möglichkeit vermieden.

Den einen Bestandteil der neuen Dunkelfeldeinrichtung bildet der eigene Beleuchtungsapparat (s. Fig. 1), welcher an Stelle des



1.

Dunkelfeld-Beleuchtungsapparat.



2.

Objektiv mit Stempelblende.

gewöhnlichen Beleuchtungsapparates in dessen federnde Hülse unter dem Mikroskop eingesteckt wird.

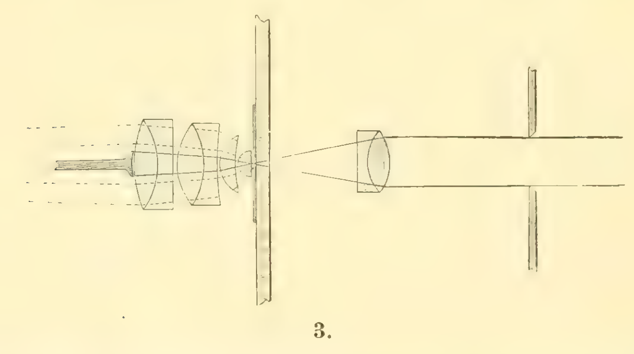
Das Beleuchtungssystem ist eine achromatische Doppellinse von 9 mm Brennweite und 4 mm Öffnung, welche dem Öffnungswinkel von 24° entspricht. Die obere Planfläche des Beleuchtungssystems sitzt 7 mm unter der Objektebene, so daß letztere mit dem oberen Brennpunkt des Beleuchtungssystems zusammenfällt.

Unter dem Kondensor sitzt eine Blendscheibe mit den Blendenöffnungen von 0·5, 1·0, 1·5 und 2·0 mm. Nach der Wahl dieser Öffnungen beträgt der Öffnungswinkel des Beleuchtungskegels 6, 12, 18 und 24 Grad.

Durch eine Zentriervorrichtung wird der Beleuchtungsapparat genau auf die optische Achse eingestellt.

Durch den Hohl- oder Planspiegel wird das Licht der Sonne oder einer Bogenlampe dem Kondensor zugelenkt.

Der zweite wesentliche Bestandteil der Dunkelfeldeinrichtung ist die Blende (Fig. 2), welche die Gestalt eines kleinen Stempels besitzt und sich auf den zentralen Teil der hinteren Linse des Ölimmersions-Systems aufsetzt. Dieser Stempel, dessen untere Fläche einen Durchmesser von 1·75 mm besitzt, wird in der Achse eines kleinen Zylinders mittels zwei über Kreuz laufender Drähtchen gehalten. Dieser Zylinder wird an Stelle des Objektivverbindungsstückes mit dem vernickelten die Linsen enthaltenden Teil des Objektives verschraubt. Die lose in der optischen Achse verschiebbare Blende fällt beim Gebrauch von selbst, vermöge ihres Gewichts auf die hintere Linsenverbindung des Objektives und schneidet allen



3.

Schematische Darstellung des Strahlenverlaufes in Blende und Objektiv.

zentralen Bündeln bis zu einer Öffnung von 38° den Zutritt zum Tubus und Bildraum ab. Ein solches Bündel — in der schematischen Darstellung (Fig. 3) durch die ausgezogenen Linien veranschaulicht — dient also nur zur Beleuchtung des Objektes.

Die bilderzeugenden Strahlenbündel, welche von dem grell beleuchteten Objekt ausgehen — in Figur 3 durch punktierte Linien bezeichnet — besitzen die Öffnungswinkel 38 bis 120°, denen die num. Aper. 0·5 bis 1·30 entsprechen.

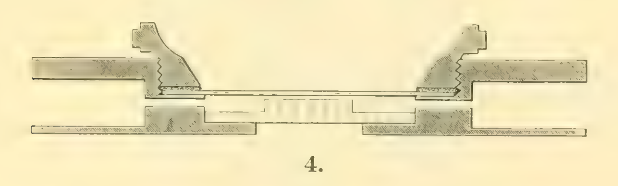
Nicht allzu schwierig läßt sich bei richtiger Handhabung des Apparates das von störenden Lichtreflexen freie dunkle Gesichtsfeld erzielen.

Der scharfe Kontrast zwischen dunkelem Feld und grell leuchtendem Bilde läßt noch Objekte hervortreten, welche bei gewöhnlicher

Beleuchtung dem Auge entgehen. Es kann deshalb diese Dunkelfeldeinrichtung, welche der von SIEDENTOPF und ZSIGMONDY (Annal. der Physik X, 1903, p. 1—39) angegebenen Methode verwandt ist, auch zur Erforschung ultramikroskopischer Teilchen vorteilhaft herangezogen werden. Auch sonst unsichtbare ungefärbte Bakterien lassen sich durch diese Einrichtung zur Wahrnehmung bringen.

Zur Untersuchung ultramikroskopischer Teilchen in Flüssigkeiten, z. B. in Gold- und Silberlösungen, dient eine Kammer, welche Figur 4 im Querschnitt zeigt. Die Einrichtung der Kammer ist folgende:

In einer Messingplatte ist eine zylindrische Vertiefung ausgedreht. Den Boden dieser Kammer, deren Mitte durchbohrt ist, deckt eine Glasplatte. Die Mitte der Glasplatte bildet eine kreisrunde Erhöhung, deren plane und mit der Bodenfläche parallele Oberfläche etwa 1 mm die Bodenfläche überragt. Zwischen diesem inneren zylindrischen Glaskörper und der Kammerwand ist eine Rinne ge-



4.

Kammer zur Untersuchung von Flüssigkeiten.

bildet. Das dünne Deckglas von 18 mm Durchmesser, welches zur Bedeckung der Kammer dient, ist an der unteren Seite eines Ringes, der sich auf die Metallkammer aufschraubt, mit einer Gummidichtung aufgesetzt. Das verschraubte Deckglas sitzt so auf dem oberen, etwas über der Oberfläche des Glaszylinders erhöhten Metallrand der Kammer, daß zwischen der Unterfläche des Deckglases und der Oberfläche des Glaszylinders sich ein 0·08 mm hoher Raum bildet, der mit der Rinne in Verbindung steht. Von dieser führen zwei Öffnungen, durch welche die zu untersuchende Flüssigkeit zu- und abströmt, nach außen. In dem von dem Dunkelfeldkondensor beleuchteten schmalen Raum zwischen Deckglas und Glaszylinder wird die Untersuchung vorgenommen.

Es treten bei der Beobachtung mit der beschriebenen Dunkelfeldbeleuchtung, wie überhaupt bei Anwendung von Dunkelfeldbeleuchtung, leicht stark störende Beugungserscheinungen hervor.

Sie lassen sich durch eine passende Wahl der Stelle des Prä-

parates, in welcher die beleuchteten Objekte nicht zu sehr gehäuft auftreten, durch eine günstige Einbettung der Objekte, durch richtige Regulierung und Dämpfung des Lichtes vermindern.

Gelingt es durch solche oder ähnliche Mittel Bilder zu erhalten, in denen die sekundären Beugungsbilder gegen das primäre Bild sehr deutlich zurücktreten und letzteres nicht verwirren, so könnte dieser Beleuchtungseinrichtung, mit welcher man bei gewöhnlicher Beleuchtung unsichtbare Objekte zu erkennen vermag, ein günstiges Prognostikon für die Zukunft gestellt werden.

[Eingegangen am 19. März 1905.]

Ein Zylinder-Rotations-Mikrotom.

Von

Hermann Triepel

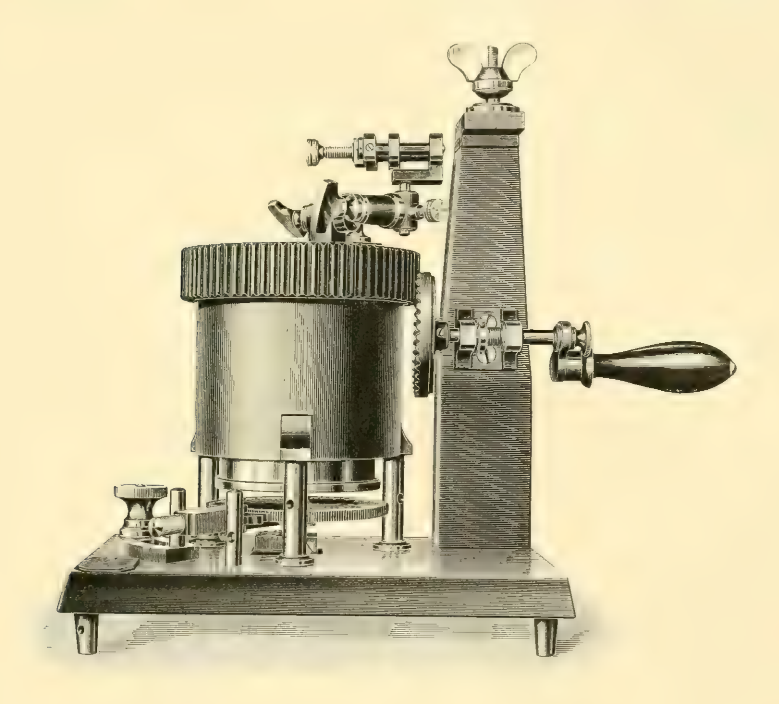
in Greifswald.

Hierzu drei Holzschnitte.

Bei den meisten der bisher konstruierten Mikrotome sind Schnittebene des Objektes und gleitende Flächen des Instrumentes so angeordnet, daß schon die geringste Abweichung von der exakten Bewegung der Gleitflächen nicht unbeträchtliche Schwankungen der erzielten Schnittdicke herbeiführen kann. So bedingt beispielsweise bei Schlittenmikrotomen eine minimale Drehung des Messerschlittens, wie sie leicht beim Schneiden schwieriger Objekte sich einstellt, infolge von Hebelwirkung einen bedeutenden Ausschlag des freien Messerendes. Der Übelstand wird besonders dann fühlbar, wenn sich zwischen den aufeinander gleitenden Flächen eine Ölschicht befindet, da deren Form veränderlich ist. Die Dicke dieser Schicht schwankt erheblich, sobald der auf ihr lastende Druck nur im geringsten Grade verändert wird.[1]

[1]) Vgl. Heidenhain, M., Über die Schlittenbremse, eine Neukonstruktion am Jungschen Mikrotom zur Vermehrung der Stabilität der Schlittenführung (Diese Zeitschr. Bd. XVIII, 1901, p. 138).

Ich glaube nun, daß bei dem Zylinder-Rotations-Mikrotom, das ich im folgenden beschreiben werde, der Einfluß der genannten Fehlerquelle von vornherein durch das Prinzip ausgeschaltet ist, das der Konstruktion des Instrumentes zugrunde gelegt wurde. Es ist bei diesem nur eine einzige gleitende Fläche vorhanden, die sowohl bei der Hebung des Objektes, als auch bei der Herstellung der Schnitte bewegt wird, so daß die unvermeidlichen Abweichungen



1.

von mathematisch-exaktem Gang auf einen einzigen Ort beschränkt sind. Die Schnittebene des Objektes ist nun senkrecht zur Gleitfläche orientiert, und etwa vorkommende ungewollte Verschiebungen werden daher im wesentlichen nur Verlagerungen des Objektes parallel zur Schnittebene, aber nicht senkrecht zu ihr veranlassen.

Das Mikrotom ist nach meinen Angaben in der Werkstätte von Gustav Miehe angefertigt worden. Einige Einzelheiten der Konstruktion wurden auf Anraten von Herrn F. Bode, des Inhabers der Werkstätte, in den Plan übernommen.

Figur 1 zeigt das Mikrotom in (nicht ganz) $^{1}/_{3}$ der natürlichen Größe.

Mit einer Grundplatte ist ein auf drei Füßen ruhender starkwandiger Hohlzylinder von 107 mm äußerem Durchmesser fest verbunden. In ihm befindet sich ein zweiter Hohlzylinder, der aus Stahl gefertigt ist, eine Höhe von 115 mm und einen äußeren Durchmesser von 80 mm besitzt und am oberen und unteren Ende durch eine Messingplatte verschlossen ist. Der unteren Verschlußplatte ist noch ein kleines Plättchen aus gehärtetem Stahl aufgeschraubt, mit dem der innere Zylinder auf der Mikrometerschraube steht. Die Stahlkuppe der Schraube ist gleichfalls gehärtet. Im übrigen ist die Hebungsvorrichtung die bekannte; Drehung der Scheibe um die Breite eines Zahnes bewirkt Hebung des Zylinders um 2 μ.

An der oberen Verschlußplatte des inneren Zylinders ist die Objektklammer befestigt. Das Schneiden geschieht in der Weise, daß der Zylinder mit dem Objekt gedreht wird, während das Messer festgestellt ist.

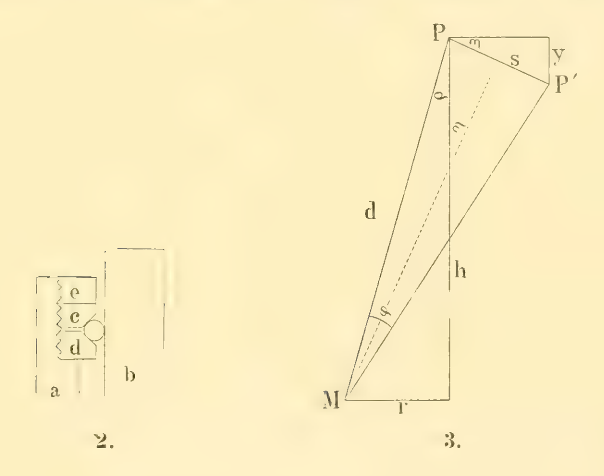
Von den weiteren Einrichtungen des Apparates sind zunächst die beiden Kugellager zu erwähnen, in denen sich der innere Zylinder bewegt, und die am oberen und unteren Ende des festen Zylinders angebracht sind. Figur 2 stellt in $^{3}/_{4}$ der natürlichen Größe einen Schnitt durch das obere der beiden Lager dar. Es bedeutet hier *a* den äußeren, *b* den inneren Zylinder, *c* und *d* sind zwei Stahlringe, die in ein an der Innenseite von *a* gedrehtes Gewinde eingeschraubt sind. Die Ringe sind an der unteren, beziehungsweise oberen inneren Kante abgeschrägt, und sie begrenzen zusammen mit der äußeren Fläche des inneren Zylinders einen im Durchschnitt dreiseitigen Kanal, der vollkommen mit Stahlkugeln von 4 mm Durchmesser angefüllt ist. Beim Justieren des Instrumentes wird der Ring *c* dem Ring *d* nach Möglichkeit genähert und darauf durch die Kontremutter *e* in der Lage gesichert.

Das Messer wird auf einem massiven vierseitigen, nach oben zu etwas verjüngten Prisma (s. Fig. 1) befestigt, das 23 cm hoch ist und rechts von den Zylindern etwas hinter der horizontalen Mittellinie steht. Das Prisma trägt an seiner vorderen Seite das Lager, in dem sich die Achse der Kurbel dreht. Am linken Ende der Achse befindet sich ein aus Hartgummi gefertigtes Zahnrad, und dessen Zähne greifen in vertikal stehende Leisten ein, die an einem den äußeren Zylinder kragenartig überragenden Vorsprung der oberen Verschlußplatte des inneren Zylinders angebracht sind. Bei der

durch die Kurbeldrehung bewirkten Bewegung des Zylinders findet eine Übersetzung von 2 : 1 statt.

Der Objekthalter ist so eingerichtet, daß er einmal im ganzen in verschiedene Entfernung von der Zylinderachse gebracht werden kann. (Der Ort der gleitenden Fläche ist durch einen auf der oberen Verschlußplatte eingeschnittenen Kreis bezeichnet.) Ferner können an einem Kreuzstück Drehungen um zwei zueinander senkrecht stehende horizontale Achsen ausgeführt werden, und der Stift der Klammer läßt sich höher und tiefer stellen und um seine eigene Achse drehen.

Von den Maßen des Apparates ist noch bemerkenswert, daß die Mittellinien der Kugellager um 74 mm voneinander entfernt sind



2. 3.

und die Mitte des oberen Lagers von der durch das obere Ende des Prismas gelegten Horizontalebene (die annähernd mit der Schnittebene zusammenfällt) um 96 mm absteht.

Es erscheint geboten, daß man bei einem neukonstruierten Mikrotom die Größe des überhaupt möglichen Fehlers zu ermitteln sucht und so über die theoretischen Erwägungen Rechenschaft gibt, die zu dem Bau des Instrumentes geführt haben.

Bei dem beschriebenen Zylinder-Rotations-Mikrotom ist — sofern man von einer Deformation der Metallteile absieht — eine Abweichung vom mathematisch-exakten Gang nur dadurch möglich, daß der innere Zylinder selbst bei der sorgfältigsten Justierung noch minimale Drehungen um horizontal liegende Achsen ausführen kann. Der Mittelpunkt dieser Drehungen kann in der Zylinderachse

und in halber Höhe zwischen den beiden Kugellagern angenommen werden.

Beträgt die Drehung des Zylinders um den Punkt M (s. Fig. 3) den Winkel φ, so bewegt sich der Objektpunkt P nach P', d. h. er senkt sich um y, wobei y den gesuchten möglichen Fehler bedeutet.

Nennt man r den Abstand des Punktes P von der Zylinderachse, d seinen Abstand von M, h seinen Abstand von der durch M gelegten Horizontalebene, s die Gerade PP' und η und ϱ die in den gezeichneten rechtwinkligen Dreiecken den Seiten y bezw. r gegenüber liegenden Winkel, und setzt man

$$\sin\frac{\varphi}{2} = \frac{s}{2d} = c,$$

$$\cos\frac{\varphi}{2} = k,$$

so ergibt sich

$$\begin{aligned} y &= s \cdot \sin\eta = s \cdot \sin\left(\frac{\varphi}{2} + \varrho\right) \\ &= s\left(\sin\frac{\varphi}{2}\cos\varrho + \cos\frac{\varphi}{2}\sin\varrho\right) \\ &= s\left(c \cdot \frac{h}{d} + k \cdot \frac{r}{d}\right) = \frac{s}{d}(ch + kr) \\ y &= 2c(ch + kr). \end{aligned}$$

Es folgt hieraus, daß der mögliche Fehler um so größer ist, je größer r ist, d. h. der Abstand des Objektpunktes von der Zylinderachse. Der Fehler wächst auch mit wachsendem h, aber in viel geringerem Grade, da bei den in Frage kommenden Werten von $\frac{\varphi}{2}$ jedenfalls $c < k$. Ja, man kann, da $\frac{\varphi}{2}$ sehr klein ist, die Größe, in der c^2 als Faktor auftritt, vernachlässigen und erhält somit näherungsweise

$$y = 2ckr = 2\sin\frac{\varphi}{2}\cos\frac{\varphi}{2}\,r$$

$$y = \sin\varphi\, r.$$

Der mögliche Fehler ist also direkt proportional dem Sinus des möglichen Neigungswinkels und dem Abstand des Objektes von der Zylinderachse.

Der Fehler würde $= 0$ werden, wenn man $r = 0$ machte, d. h.

das Objekt in die Achse des Zylinders brächte, wobei aber natürlich die Herstellung von Schnitten ausgeschlossen wäre.

Die Größe des Winkels φ hängt bei gleich guter Justierung des Instrumentes von den Dimensionen der Zylinder ab, φ wird um so kleiner, je weiter die beiden Kugellager voneinander und von der Zylinderachse (Punkt M) abstehen. Aus technischen Gründen ist man freilich genötigt, gewisse Maße der Konstruktionsteile nicht zu überschreiten.

Um eine Vorstellung von der Größe y zu gewinnen, kann man für φ willkürlich einen beliebigen kleinen Wert einsetzen. Es sei beispielsweise $\varphi = 1'$, was bei den angegebenen Maßen des Instrumentes einer seitlichen Verschiebung des inneren Zylinders in der Höhe eines Kugellagers um fast genau 0·01 mm entspricht. Dann berechnet sich

für $r = 10$ mm	$y = 0{\cdot}0029$ mm	
„ $r = 20$ „	$y = 0{\cdot}0058$ „	
„ $r = 30$ „	$y = 0{\cdot}0087$ „	
„ $r = 40$ „	$y = 0{\cdot}0116$ „	
„ $r = 50$ „	$y = 0{\cdot}0145$ „	etc.

Die berechneten möglichen Fehler sind zwar schon recht merklich, indessen ist zu bedenken, daß sie doch bedeutend kleiner sind als die Fehler, die bei Mikrotomen anderer Konstruktion sich einstellen können, daß ferner der Wert des Winkels φ bei guter Justierung wohl noch herabgedrückt werden kann, und daß endlich die angegebenen Werte von y nur für den ungünstigsten Fall Geltung haben, während bei gut schneidbaren Objekten y für jedes r *eo ipso* $= 0$ oder doch nahezu $= 0$ wird.

Wenn nun auch der mögliche Fehler, wie angegeben, zugleich mit dem Abstande r von der Achse abnimmt, so erhält man doch tatsächlich durchaus befriedigende Resultate, wenn man bei einem Abstande von 4—5 cm arbeitet, also dort, wo der Kreis in die obere Verschlußplatte des inneren Zylinders eingeschnitten ist, oder noch außerhalb von dieser Stelle. Man könnte meinen, es müsse störend wirken, daß die Messerschneide nicht auf geradem, sondern auf kreisförmig gebogenem Wege durch das Objekt geführt wird. Das ist aber nicht der Fall. Wenn r zu klein genommen wird und das (in Paraffin eingebettete) Objekt nicht entsprechend schmal ist, kommt es vor, daß die Zusammenschiebung des Schnittes — die ja bei Paraffinobjekten nie ausbleibt — nicht in seiner ganzen Breite

gleichmäßig ausfällt. Wählt man r etwas größer, so treten solche Differenzen nicht mehr in die Erscheinung, so daß das Mikrotom u. a. auch bei der Herstellung von Bändern gute Dienste leistet.

Als weiteren Vorteil, den der Gebrauch des Mikrotoms mit sich bringt, möchte ich es bezeichnen, daß man es nicht nötig hat, das Objekt nach Anfertigung eines Schnittes vor der Herstellung des nächsten wieder unter der Messerschneide zurückzuführen. Wenn man dies vermeiden will, so braucht man nur die Kurbel immer in demselben Sinne weiter zu drehen.

Als Annehmlichkeit ist es wohl anzusehen, daß die Gleitflächen vollkommen verdeckt, also vor Beschädigungen wie auch vor Staub geschützt sind. Die Anwendung eines Schmiermittels ist überflüssig oder nur nach sehr langem Gebrauche des Instrumentes wünschenswert.

Das Mikrotom ist in erster Linie für Schneiden mit quergestelltem Messer bestimmt. Das Objekt wird genau senkrecht zur Messerschneide bewegt, wenn diese bezw. ihre Verlängerung die Achse der Zylinder schneidet. Die radiäre Richtung erhält die Messerschneide bei den gebräuchlichen kurzen Messern mit ca. 3·5 cm breiter Klinge dann, wenn das Messer senkrecht zur Tiefenrichtung des ganzen Instrumentes gestellt wird, ganz entsprechend der horizontalen Stellung bei Schlittenmikrotomen).

Man kann dieselben Messer auch mäßig schräggestellt verwenden, indessen soll man mit ihnen nicht unter allzu kleinen Winkeln schneiden. Wie man durch eine einfache Zeichnung leicht bestätigt, schließt eine Gerade, die mehrere konzentrische Kreise schneidet, mit diesen, sofern sie nicht radiär gerichtet ist, verschiedene Winkel ein. So werden auch an dem neuen Mikrotom beim Schneiden mit schräggestelltem Messer Teile des Objektes, die ungleich weit von der Zylinderachse entfernt sind, unter verschiedenen Winkeln getroffen. Große Differenzen im Schnittwinkel können zum Zerreißen des Schnittes führen. Celloïdinschnitte sind widerstandsfähiger als Paraffinschnitte, dicke Schnitte sind widerstandsfähiger als dünne (aus diesem Grunde läßt sich keine allgemein gültige Vorschrift über den Grenzwinkel angeben, bis zu dem Schrägstellungen der geraden Messer erlaubt sind). Wenn man an allen Punkten des Objektes unter gleichem Winkel schneiden wollte, so müßte man der Messerschneide eine gekrümmte Form geben, und zwar die Form einer logarithmischen Spirale, die für jeden Schnittwinkel einen besonderen Verlauf besitzen würde. Weil die Herstellung exakt gekrümmter Messer mit großen Schwierigkeiten verbunden ist, und zudem das Arbeiten mit sichelförmigen Messern,

wie ein Versuch zeigte, nicht zu tadellosen Schnitten führt, wird fernerhin von ihrer Anfertigung abgesehen werden. Übrigens beachte man, daß an dem neuen Mikrotom ein schräggestelltes (gerades) Messer mit der kreisförmigen Bahn des Objektes natürlich einen viel spitzeren Winkel bildet als mit der Tiefendimension des Instrumentes.

Der Vertrieb des gesetzlich geschützten Mikrotoms ist der Firma Gustav Miehe in Hildesheim übertragen worden.

[Eingegangen am 17. März 1905.]

[Aus dem anatomischen Institut zu Gießen.]

Neues Mikrotom von Leitz.

Von

Prof. Henneberg.

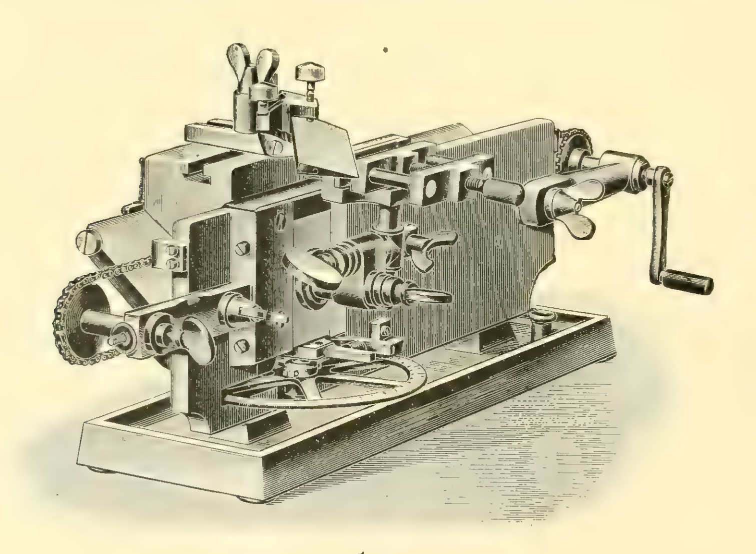
Hierzu vier Holzschnitte.

Seit einigen Monaten ist im hiesigen anatomischen Institut ein Mikrotom aus der Werkstatt von Leitz-Wetzlar in Gebrauch, das außer Einrichtungen, die sich bereits an andern Mikrotomen finden, einige neue aufweist und, nachdem nach unserer Angabe eine Anzahl von Änderungen vorgenommen wurden, uns in mancher Beziehung zweckmäßig zu sein scheint. Das Instrument ist so einfach und die Figuren genügend übersichtlich, daß die Beschreibung kurz gefaßt werden kann.

Es handelt sich um ein ganz besonders stabil gebautes Schlittenmikrotom mit automatischer Objekthebung und großem, recht schwerem Messerschlitten, der direkt mit der Hand oder durch Kette und Zahnrad geführt wird. Das Instrument wird in zwei Größen mit einer Bahnlänge von 32 und 42 cm hergestellt. Für die meisten Zwecke wird die kleine Form genügen.

Will man den Messerblock direkt mit der Hand führen, so befestigt man einen Bügel an dem Block, und zwar geschieht dies mit derselben Schraube, die auch die Messerklammer hält (cf. Fig. 2).

Bei der Benutzung der Kette wird das Mikrotom an jedem Ende mittelst einer Flügelschraube mit einem Balken armiert (Fig. 1), von denen jeder ein Kettenrad, der eine außerdem die Kurbel, der andere die Einrichtung zum Spannen der Kette trägt. Die Bewegungen des Blockes mit Hilfe der Kette kann auf verschiedene Art geschehen. Dies scheint mir ein Vorzug des Instrumentes zu sein, der es besonders auch für Anfänger brauchbar macht, da man, je nachdem es einem bequemer ist, entweder mit der rechten Hand die Kurbel dreht und mit der linken den Pinsel führt oder umgekehrt. Die Kurbel läßt sich nämlich, abgesehen von der Stellung, die Figur 1

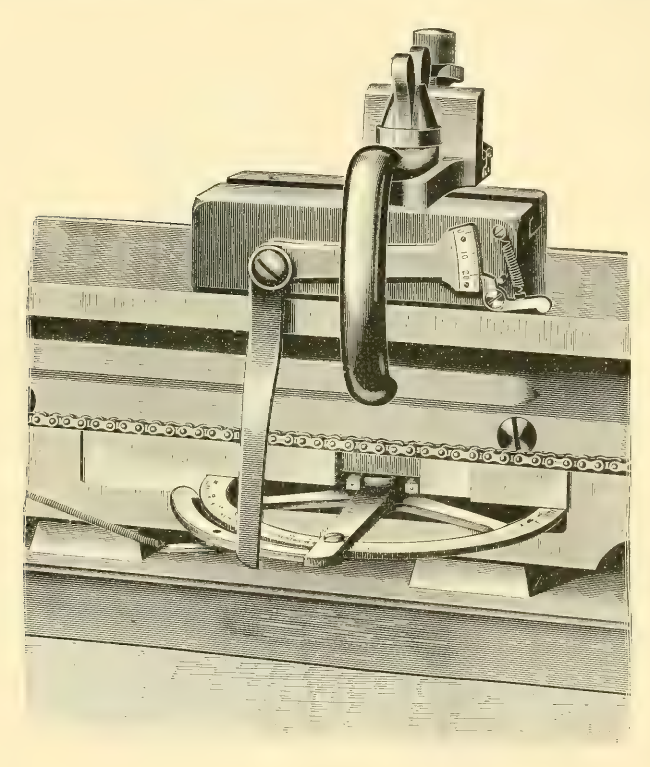


1.

zeigt, an demselben Ende des Mikrotoms, aber an der andern Seite des Kettenrades anbringen. Man dreht dann mit der rechten Hand. Sodann lassen Kurbel und Kettenspanner sich vertauschen. Nimmt man die Kurbel an das hintere Ende, so dreht man dieselbe naturgemäß mit der Linken.

Die Art der selbsttätigen Hebung des Objekts zeigt Figur 2. Die Drehung des Zahnrades um ein bestimmtes Stück geschieht indirekt durch einen winkelig gebogenen Hebel, der mittels einer Schraube beweglich am Block (daher Blockwinkel) befestigt ist. Der nach unten gerichtete Schenkel nimmt bei der Bewegung des Schlittens nach dem Ende der Bahn einen federnden Haken mit, der

in die Zähne des Rades eingreifend dies ein Stück mit herumzieht. Die Länge der Strecke, um welche der Blockwinkel das Rad auf solche Weise dreht, ist abhängig von der Stellung des nach unten gerichteten Schenkels. Je steiler er steht, desto länger, je schräger, desto kürzer ist sie. Dabei ist Voraussetzung, daß der Block immer bis zu einem bestimmten Punkte der Bahn hin bewegt wird, nämlich



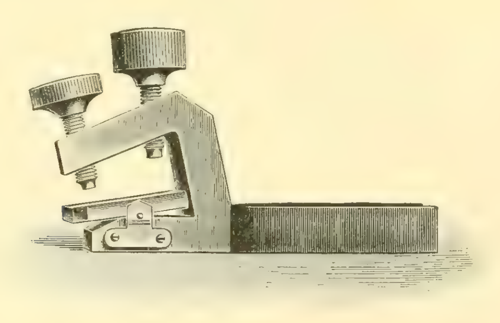
2.

bis an das Ende derselben, wo er an eine quere Platte anschlägt. Letztere ist, um den Stoß zu mildern, mit Leder überdeckt. In derselben Weise wirkt es günstig, wenn man das ganze Mikrotom auf eine Filzplatte stellt oder unter die drei Füße Gummistücke legt.

Die Steil- oder Schrägstellung des Blockwinkels geschieht, wie aus der Figur 2 sofort ersichtlich, mit Hilfe eines kleinen Sperrhakens; die auf der kleinen Skala angebrachten Zahlen geben die Anzahl der Radzähne an, um die bei der betreffenden Stellung des Block-

winkels das Rad gedreht wird. Ein Radzahn entspricht einer Schnittdicke von 0·001 mm. Bei steilster Stellung des Blockwinkels wird das Rad um 25 Zähne gedreht. Es werden also dann Schnitte von 25 μ geliefert.

Die Vorwärtsbewegung des Hakens erfolgt durch die auf der Figur 2 sichtbare Spiralfeder, und zwar dann, wenn der Block das Messer zum Objekt hinführt. Hierbei gleitet der Haken am Zahnrande vorwärts, bis er an der vertikalen Wand des Mikrotoms einen Widerstand findet. Damit das Zahnrad nicht zu leicht geht, wodurch ein Zurückschnappen eintreten kann, ist eine kleine Bremse (auf den Figuren nicht sichtbar) angebracht, die durch Anziehen einer Schraube in ihrer Wirkung reguliert wird.



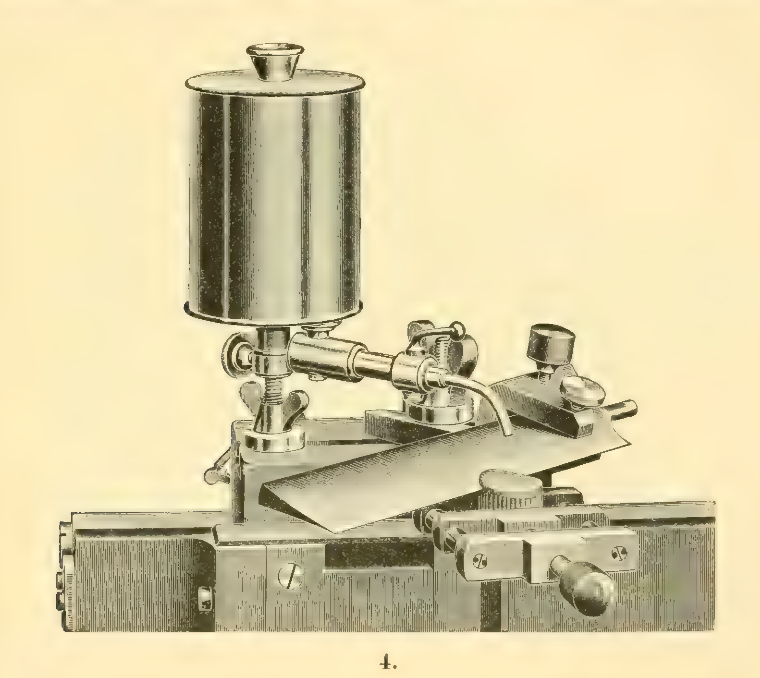
3.

Zur Erleichterung der Einstellung des Objekthalters besteht die an ihm befestigte Mutter, in der sich die Zahnradspindel bewegt, aus zwei Hälften, an deren jede wie bei einer Zange je ein Schenkel ansitzt (auf Fig. 1 sichtbar). Eine zwischen den letzteren angebrachte Feder drückt die beiden Teile genügend fest zusammen. Ein Druck auf die Schenkel genügt, um die Mutter zu öffnen und den Objekthalter an dem Gewinde der Spindel hinauf und hinab schieben zu können.

Die Messerklammer ermöglicht es durch den Gebrauch zweier Schrauben, das Messer, das auf einer um eine Achse drehbaren Platte ruht, steiler oder flacher zu stellen; die Schraube zur Befestigung der Messerklammer gleitet auf dem Block in einer Rinne, wodurch die Verschiebung der Klammer sehr bequem geschieht.

Um beim Schneiden von Celloïdinobjekten das Messer mit 70 $^0/_0$ Alkohol zu beträufeln, haben wir dem Mikrotom einen Tropfapparat beigefügt. Dieser besteht aus einem Kessel mit abschließbarer Aus-

flußröhre am Boden. Er wird aufgesetzt und durch eine Schraube befestigt auf einem Zapfen, der mit einer Fußplatte in die Blockrinne eingeschoben wird. Es ist dafür gesorgt, daß die Ausflußöffnung in die Nähe des Objektes geführt werden kann. Dies geschieht einmal dadurch, daß der ganze Apparat in der Blockrinne hin- und herbewegt werden kann. Sodann ist die horizontale Ausflußröhre um eine am Boden des Kessels befestigte kurze vertikale zum Durchtritt des Alkohols durchbohrte Achse drehbar.



4.

Da letztere an der Peripherie des kreisförmigen Bodens liegt, so kann sie und damit auch die Ausflußöffnung, indem man den Kessel um seine Achse dreht, auch auf solche Weise dem Objekt genähert werden.

Um bei querstehendem Messer die zur Anfertigung gerader Schnittbänder nötigen senkrecht zur Bahn und parallel zur Messerschneide stehenden Ebenen vorn und hinten am Paraffinblock herzustellen, läßt sich an dem Messerblock ein genau im rechten Winkel zur Bahn stehendes Messer drehbar anbringen. Dasselbe wird einmal mit dem einen Ende, dann mit dem anderen an den Messerblock

angefügt, so daß es beim Schneiden der beiden Ebenen jedesmal seine genau senkrecht stehende Fläche dem Paraffinblock zuwendet. Indem man den Messerblock allmählich nach dem eingebetteten Objekt hin bewegt, schneidet man das umgebende Paraffin, soweit es entbehrlich ist, schichtweise weg. Wir haben uns dieses Messer vor Jahren herstellen lassen und glauben es empfehlen zu können.

[Eingegangen am 31. März 1905.]

[Aus dem Pathologisch-Anatomischen Institut zu Athen.]

Vorrichtung zur gleichzeitigen schnellen Färbung der auf Deckgläsern oder Objektträgern aufgeklebten Serienschnitte.

Von

Dr. Konst. Melissinos,

Privatdozent der Anatomie und Histologie und Prosektor an dem Pathologisch-Anatomischen Institut.

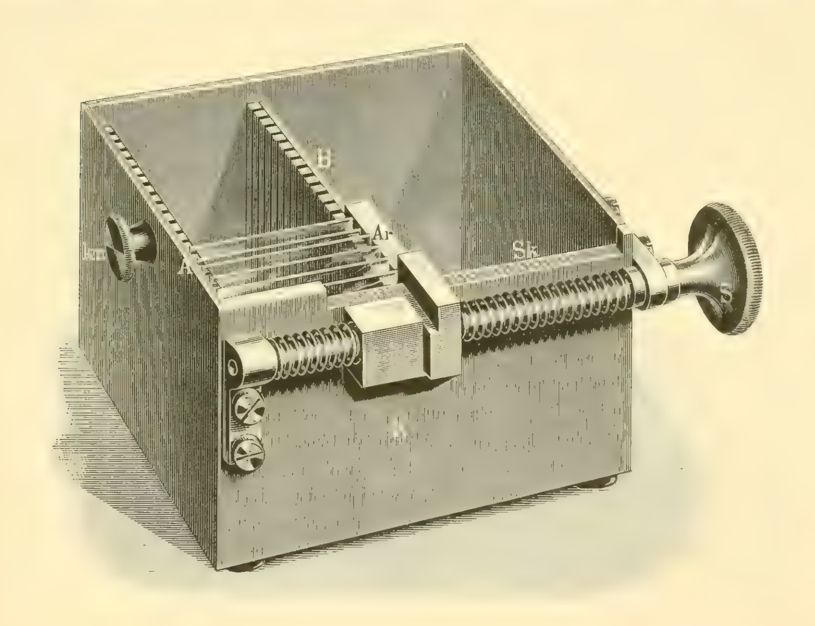
Hierzu ein Holzschnitt.

Denjenigen, welche sich der Methoden zum ein- oder vielfachen Färben der auf Deckgläsern oder Objektträgern aufgeklebten Serienschnitte bedienen, stehen einige Vorrichtungen zur Verfügung, bei deren Anwendung die allgemeine Behandlung der Färbung und des Auswaschens beschleunigt und die Färbung der Schnitte einfarbig wird. Diese Instrumente haben die meisten (die sich mit der mikroskopischen Technik beschäftigen) gemäß der Mißstände der früheren modifiziert oder ganz neue anfertigen lassen, z. B. hat Schieffferdecker[1] im Jahre 1900 die auf der einen Seite befindliche und mit Riefeln versehene feste Platte der älteren durch eine bewegliche mit Riefelungen versehene Platte ersetzt, und so ist

[1]) Schiefferdecker, H., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVII.

es ihm gelungen in den Apparat Platten verschiedener Größe einzusetzen. R. Kutner[1] in Berlin, J. Schaffer[2] in Wien, R. Bormann[3] in Göttingen, Caro[4] in Berlin, Buscalioni[5] in Rom, Hellendall[6] in Straßburg, und im Jahre 1903 J. Dewitz[7] und Schaffer[8] haben, nachdem sie die früheren Apparate modifiziert und ergänzt hatten, jeder eine eigene Vorrichtung zum Färben und zu andern Behandlungen der aufgeklebten Schnitte hergestellt.

Da wir annehmen dürfen, daß der Mikroskopiker besonders darauf bedacht sein muß, wie man Zeit und Material, das oft nicht



gerade billig ist, spare, und die in dem Kästchen eingesetzten Deckgläser bequemer und besser aufbewahre, als es die bisher übliche Numerierung gestattete, haben wir durch die Ergänzung des mo-

[1]) Kutner, K., Deutsche med. Wochenschr. 9. F., 1893.
[2]) Schaffer, J., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XI.
[3]) Bormann, K., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XI.
[4]) Caro, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XI.
[5]) Buscalioni, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIV.
[6]) Hellendall, H., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVII.
[7]) Dewitz, J., Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXXIII.
[8]) Schaffer, J., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIX.

difizierten SCHIEFFERDECKERschen Apparates und am hiesigen Platze in der mechanischen Werkstätte des Herrn KÖNIG einen eigenen Apparat angefertigt, welcher viel besser ist als jener und allen Bedürfnissen der mit histologisch-mikroskopischen Arbeiten Beschäftigten gerecht wird.

Mein Apparat, welchen ich auf dem Panhellenischen Kongreß in Athen (6. Mai 1903) vorgezeigt habe, besteht aus einem viereckigen Kästchen *K*, welches 80 mm lang, 45 mm breit und hoch ist. Auf der einen inneren Seite des Apparates befindet sich eine mit Riefelungen versehene Platte *A*, welche durch einen kleinen Knopf *Kn* festgehalten wird. Die Platte *A* hat 20 Riefelungen *R* zur Aufnahme von 20 Objektträgern oder 40 Deckgläsern. Parallel zu der Platte *A* und ebenfalls in dem Kästchen befindet sich eine zweite Platte *B*, welche die gleiche Anzahl von gleichgroßen Riefelungen hat. Diese steht durch einen langen Arm *Ar* mit der Schraube *S* in Verbindung. Dreht man diese Schraube, so nähert und entfernt sich die Platte *B* von der unbeweglichen Platte *A*. Eine jede von den riefenhaltigen Platten trägt am unteren Rande und in der inneren Fläche einen feinen Draht, welcher 5 mm über die Oberfläche hervorragt und dazu dient, das Herabfallen der Platten in den Niederschlag des Farbstoffes am Grunde des Gefäßes zu verhindern. Die bewegliche Platte *B* trägt an ihren Seitenrändern zwei Einschnitte, um die Zirkulation der Farbstofflösungen, Waschflüssigkeiten etc. zu erleichtern. Die größten Gläser, die man hineinstellen kann, haben folgende Maße: 14 × 14 mm, 40 × 40 mm, 18 × 24 mm, 20 × 30 mm, 23 × 30 mm, 30 × 40 mm und 23 × 50 mm, Deckgläser quadratische und längliche Form, 18—30 mm rundliche Form, und 28 × 48 mm, 26 × 76 mm, 45 × 76 mm Objektträger. Die Größe der eingestellten Deckgläser wird durch eine auf dem oberen Rand der Seite, wo die Schraube *S* ist, eingravierte Skala *Sk* in Millimetern gemessen.

Mein Apparat übertrifft die von andern Autoren beschriebenen Apparate, a) weil man mit ihm Objektträger oder Deckgläser gleichzeitig behandeln kann; b) weil die in den Riefelungen der Platten *A* und *B* eingestellten Deckgläser durch eine Umdrehung der Schrauben festgehalten werden, so daß, wenn man den Apparat bei dem Ausgießen der verschiedenen Färbflüssigkeiten umkehrt, keine Platte (Deckglas) hinabfällt; c) schließlich kann man mit einem und demselben Apparat ein reichliches auf den Deckgläsern aufgeklebtes Material in kurzer Zeit behandeln. Die verschiedenen darin hin-

gestellten Materialien, z. B. Färbflüssigkeiten, Alkohol, Xylol, welche man durch einen in der einen Ecke befindlichen Schnitt hineingießt, werden in verschiedenen Flaschen zur zweiten und dritten Färbung derselben nach vorhergehender Filtration aufbewahrt. Dieser Apparat, dem ich eine kleine Modifikation hinzufügte, die ich bald veröffentlichen werde, wird durch Lösen des kleinen Knopfes *K* und der beiden kleinen Schrauben des Armes der Platte *B* auseinander genommen und dann kann man ihn im Innern, sowie die Platten *A* und *B* gut reinigen.

7 Monate nach meiner Mitteilung auf dem II. Panhellenischen Kongreß hat Dr. W. Hoffmann[1] in Heidelberg einen kleinen Apparat für Deckgläser beschrieben, welchen er Deckglastransporteur für Schnittfärbung nennt. Dieser ist sehr einfach und billig, aber er erfüllt nicht alle die von mir beschriebenen Zwecke und besonders was die gute Befestigung der Deckgläser aller Arten derselben, z. B. von rundlichem Format, betrifft.

[1]) Hoffmann, W., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX, H. 2.

[Eingegangen am 26. Januar 1905.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Schmorl, G., Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. 3., neu bearbeitete Aufl.; Leipzig (F. C. W. Vogel), 1905. 8·75 M.

Die vorliegende dritte Auflage der „pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden" hat eine nicht unerhebliche Mehrung ihres Umfanges erfahren, was in Anbetracht der massenhaft anschwellenden diesbezüglichen Veröffentlichungen wohl nicht zu vermeiden war, im Gegenteil nur zu begrüßen ist, da der Verfasser auch für die neue Auflage seinem Grundsatz treu blieb, nur von ihm selbst nachgeprüfte Vorschriften aufzunehmen; auch so noch war die Auswahl jedenfalls keine leichte. Einzelne Kapitel mußten infolge der Wandlungen der neuesten Technik umgearbeitet werden, andere — Abschnitte über mikroskopisches Zeichnen und über Polarisation — wurden neu eingefügt. Im übrigen blieb die Anordnung des Buches die bisherige, schon bewährte. Besonders anzuerkennen ist es, daß bei allem Streben nach Kürze die Darstellung der Methoden ausführlich genug bleibt, um eine präzise Anwendung derselben zu ermöglichen und daß, was Referent besonders hoch veranschlagen möchte, sich bei jedem Kapitel die einschlägige Originalliteratur zusammengestellt findet; sehr schätzenswert ist es ferner, daß solche Methoden, welche noch nicht bis zur völligen Sicherheit herangebildet werden konnten, als solche bezeichnet sind, so daß derjenige, welcher

das erstemal mit denselben hantiert, die Schuld des etwaigen Mißlingens nicht unbedingt auf sich oder seine Reagenzien zu schieben veranlaßt wird, was gewiß vor einem weiteren Versuch an anderem Material weniger abschrecken wird, als wenn er auf die Möglichkeit des Mißlingens nicht hingewiesen worden wäre. Auch sonst zeigen zahlreiche eingestreute Bemerkungen, namentlich Warnungen vor einzelnen naheliegenden Fehlgriffen, daß die wiedergegebenen Methoden unter den Augen des Verfassers im Laboratorium durchprobiert worden sind und das ganze Gebiet eine didaktische Durcharbeitung erfahren hat. Erwähnt soll endlich noch werden, daß auch für die dem Pathologen und Histologen sonst gewöhnlich ferner liegenden Gebiete der Untersuchung des Auges und des Gehörorgans ausreichende Vorschriften gegeben sind. Die Ausstattung des Buches ist eine des Verlags würdige. *Schmaus (München).*

Winslow, Ch.-E. A., Elements of applied Microscopy. A text-book for beginners. First edit. New York (John Wiley & Sons), 1905. 183 pp.

Nach einer kurzen Schilderung des Mikroskops und seiner wichtigsten Nebenapparate bespricht Verf. die wichtigsten Stärkearten, einige Nahrungs- und Genußmittel, einige technisch verwertbare Faserarten, die Zusammensetzung des Papiers, gibt einige Angaben über „the Microscope in Medicine and Sanitation“ und forensische Mikroskopie, spricht auf einigen Seiten kurz über Mikrochemie und schließt mit einigen Winken für die Untersuchung von Metallen etc. In allen Abschnitten handelt es sich nur um einige Beispiele, die Verf. aus den betreffenden Gebieten auswählt, die zur Einführung der Anfänger in den Stoff vielleicht genügen mögen. *Küster (Halle a. S.).*

Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefenreinkultur und Infektionslehre. 4., neu bearb. Aufl. 237 Abb., 4 Tfln., 521 pp. Berlin (Paul Parey) 1905. 19 M.

Das vortreffliche Handbuch zeigt in seiner neuen Form wiederum mancherlei Ergänzungen und Verbesserungen, die den Resultaten der neuesten Forschungen Rechnung tragen. Das Buch, das in erster Linie für die Praktiker des Gärungsgewerbes bestimmt ist, beginnt mit einer Anleitung zum Gebrauch des Mikroskops und zum mikroskopischen Sehen, erläutert unter allerhand Objekten namentlich die-

jenigen, welche dem Gärungstechniker — oft rein zufällig — begegnen und gibt am Ende der Einleitung Winke für die Einrichtung und Ausstattung eines Laboratoriums.

Den Hauptteil des Buches füllt die Besprechung der „Kulturversuche und Untersuchungsmethoden“, die Schimmelpilz- und die Hefenkunde. Zu letzterer gehören die mustergültigen Tafeln. — Das Buch sei zum Studium bestens empfohlen.

Küster (Halle a. S.).

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Groot, J. G. de, Ein neuer Kitt zum Schließen von Gefäßen mit Alkoholpräparaten, auch für den Versand (Zool. Anz. Bd. XXVIII, 1904, p. 406—407).

Derselbe besteht aus 4 g Gelatine, 30 cc Wasser und 8 g Zinkweiß. In einem dickwandigen kleinen Gefäß verreibt man zunächst das Zinkweiß mit ein wenig von den 30 cc Wasser, gibt dann das übrige Wasser und die zerkleinerte Gelatine hinzu, erwärmt über kleiner Flamme (also ohne die Siedetemperatur zu erreichen), so daß keine Luftbläschen auftreten, und bringt, nach gehöriger Mischung mit einem Pinsel, eine gleichmäßige Lage auf den vorher abgetrockneten Rand des Gefäßes. Dann wird ohne jede Eile die Glasplatte, die man vorher schwach angewärmt hat, aufgelegt, und sobald der Kitt etwas erstarrt ist, ein wenig angedrückt. Nach einiger Zeit drückt man die Deckplatte fester und zum Schluß sehr fest an, so daß der Kitt rings herum der Glasplatte anliegt und einen glatten weißen Wulst um sie bildet. Schließlich wird die Glasplatte mit einem Gewicht beschwert und das Gefäß beiseite gesetzt. Dabei ist darauf zu achten, daß vorläufig der Alkohol mit dem Kitt noch nicht in Berührung kommt. Sobald der Kittrand trocken ist, d. h. nach etwa 2 Stunden, darf dann der Alkohol ohne Gefahr den Kitt benetzen. Auch mit Korkstöpseln verschlossene Präparatgläser können mit diesem Kitt verschlossen werden. Behufs Öffnen der Gefäße wird der Kitt einfach mit Wasser befeuchtet.

E. Schoebel (Neapel).

Tellyesniczky, K. v., Aufkleben der Celloïdinschnitte (Verh. d. Anat. Ges., 18. Vers., Jena 1904; Anat. Anz., Ergänzungsh. z. Bd. XXV, 1904, p. 182).

Verf. hat die Methode von ARGUTINSKY modifiziert. Das Wesentliche derselben besteht darin, daß die Grundlage, auf welche die Celloïdinschnitte aufgeklebt werden sollen, mit einer Eiweißschicht überzogen wird, welche vor allem durch Wärme zur Gerinnung gebracht wird. Auf die geronnene Eiweißschicht legt man der Reihe nach die nassen Schnitte, welche dann mit mehrschichtigem Filtrierpapier angepreßt werden. Die Modifikation besteht darin, daß Verf. statt des Glyzerineiweißes von MAYER einfach stark verdünntes Eiweiß verwendet. Das Weiße eines Eies (etwa 20 bis 25 cc) wird mit destilliertem Wasser auf 100 cc verdünnt und filtriert, nachdem es gut durchgeschüttelt ist. Mit einer solchen Lösung kann man leicht eine gleichmäßige und dünne Schicht erhalten, während MAYERS Glyzerineiweiß immer eine ungleiche rauhe Schicht ergibt. Das Glyzerin ist ganz zwecklos. Die Versuche des Verf. ergaben, daß Eiweiß selbst in sehr verdünntem Zustande (1 : 80 bis 100) klebt. Auch das vom Verf. empfohlene Eiweiß ist so verdünnt, daß die Färbung der durch dasselbe erzielbaren Schicht fast gleich Null ist. Für histologische Kurse oder bei Anfertigung von Serienschnitten klebt Verf. die Schnitte auf größere Glimmerplatten, welche bei den Kursen zur Verteilung der Schnitte ebenso verwendet werden, wie man sie sonst bei Verteilung von Paraffinschnitten benutzt. Ein großer Vorteil des Aufklebens auf Glimmerplatten ist der, daß man das Aufdrücken mit Filtrierpapier sehr vorteilhaft mit den Walzen gewöhnlicher photographischer Satiniermaschinen bewirken kann, so daß man auch größte Schnitte leicht behandeln kann.

Schiefferdecker (Bonn).

Dreuw, Exstirpations- und Operationsfeder (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XXXIX, 1904, p. 208—210 m. 1 Fig.).

Verf. beschreibt und empfiehlt ein kleines Instrument in der Form einer Schreibfeder, welches dazu dienen soll, kleine Hautstückchen oder pathologische Affektionen bequem herauszuschneiden, was abgesehen von andern Zwecken besonders zur Sicherung der Diagnose durch die histologische Untersuchung von Wert sein kann. Die Exstirpationsfeder ist zu beziehen von dem Instrumentenmacher C. W. BOLTE Nachf., Hamburg, Rathausstraße 20, zum Preise von einer Mark.

Schiefferdecker (Bonn).

Mulon, P., Action de l'acide osmique sur les graisses (Bibliogr. anat. t. XIII, 1904, fasc. 4, p. 208—213).

Verf. kommt bei seinen Untersuchungen zu folgenden Schlüssen: 1) Die Ölsäure ist es allein, welche die Färbung durch Osmiumsäure bei der Fixierung der Fette bewirkt. 2) Jedes Fett, das sich in den Geweben direkt unter der Einwirkung von Osmiumsäure schwärzt, besteht zum größten Teile aus Oleïnsäure. 3) Jedes Fett, welches in den Geweben unter der Einwirkung von Osmiumsäure gelb oder braun wird, besteht zum größten Teile aus Palmitin- oder Stearinsäure. Die angegebene schwache Färbung wird hervorgerufen durch eine geringe Menge von Oleïnsäure. Ein solches Fett wird durch Osmiumsäure nur schlecht fixiert und wird infolgedessen durch ätherische Öle leicht gelöst. Das braun gefärbte Fett kann bei Einwirkung von schwachem Alkohol eine schwarze Färbung annehmen. 4) Die Lecithine, welche infolge ihrer chemischen Zusammensetzung stets arm an Oleïnsäure sind, gehören zu der eben genannten Kategorie der sich braun färbenden Fette, die mit Alkohol sich schwarz färben und nur mangelhaft fixiert sind. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Skrobansky, Eine Methode der nachträglichen Färbung mit Bleu de Lyon und Pikrinsäure (Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXI, 1904, H. 1—3, p. 21—22).

Baumgarten und später Tonkow haben das Bleu de Lyon schon benutzt. Der letztere verwendete Jodzusatz und infolgedessen färbten sich die Präparate schon nach einigen Minuten, während ohne Jod mehrere Stunden oder gar Tage erforderlich sind. Verf. verfuhr in folgender Weise: Die Objektträger mit den in Boraxkarmin gut gefärbten Schnitten kommen aus destilliertem Wasser in folgende Mischung:

Destilliertes Wasser	50 Teile
Bleu de Lyon, gesättigte, alkoholische (95prozentige) Lösung	2 „
Pikrinsäure, gesättigte, wässerige Lösung . .	5 „

In dieser verbleiben die Schnitte 2 bis 3 Minuten und werden dann in Alkohol von 70, 80, 90 Prozent und absoluten Alkohol übertragen, dann Xylol, Kanadabalsam. Verf. hat auf diese Weise Organe behandelt, die in den verschiedensten Flüssigkeiten: Alkohol, Chromessigsäure, Sublimat, Zenkerscher Flüssigkeit etc. fixiert waren; Verf.

hat ganz junge, frisch fixierte Embryonen und Organe, die erst nach längerer Zeit der Leiche entnommen waren, gefärbt, und hat stets ein deutlich und scharf differenziertes, mehrfarbiges Bild erhalten. Die Methode ist einfach und schnell, das ganze Verfahren dauert nicht länger als 7 bis 10 Minuten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Nabias, B. de, Nouvelle méthode de coloration rapide du système nerveux au chlorure d'or (Bibliogr. anat. t. XIII, 1904, fasc. 4, p. 221—222; Compt. Rend. Soc. de Biol. t. LVI, 1904, p. 426).

Die Schnitte des Nervengewebes nach Fixierung in Alkohol, Sublimat, in den Flüssigkeiten von FLEMMING, kurz in irgendeinem Fixierungsmittel, welches Jod eintreten läßt, werden auf dem Objektträger nach Entwässerung in folgender Weise behandelt: 1) Behandlung mit einer Jodlösung. Man kann die GRAMsche Flüssigkeit verwenden (Jod 1, Jodkalium 2, destilliertes Wasser 300) oder eine schwächere Lösung, bis zu $^1/_{1000}$ herunter, die weniger intensiv einwirkt und daher den anatomischen Details weniger schaden kann. Die Schnitte werden gelb, es ist dies das Zeichen, daß das Jod eingedrungen ist, was durchaus nötig ist. 2) Abwaschen durch Übergießen mit destilliertem Wasser. 3) Behandlung mit einer Goldchloridlösung (einprozentig), die Schnitte werden wieder gebleicht. 4) Neues Auswaschen mit destilliertem Wasser. 5) Behandlung mit Anilinwasser (Anilin 1 cc, destilliertes Wasser 100 cc, tüchtig schütteln, Filtrieren durch ein feuchtes Filter und in gelbem Glase aufbewahren. Das Anilinwasser kann bis zu $^1/_{1000}$ und weiter verdünnt werden). Die so behandelten Schnitte zeigen sofort eine Veränderung, wenn die Anilinlösung stark ist; nach einigen Augenblicken, wenn sie schwach ist. Dann wieder Auswaschen in destilliertem Wasser, steigender Alkohol, absoluter Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Die eben beschriebene Umänderung kann auch, und zwar mitunter in ausgezeichneter Weise erhalten werden nach Behandlung mit Xylol-Anilin nach Entwässerung (Xylol 100 cc, Anilin 1 cc). Die Schnitte erscheinen schön lila oder purpurfarbig. Die Farbe ist dunkel nach starken Anilinlösungen, hell nach verdünnten. Unter den zahlreichen Stoffen, welche diese Umänderung hervorrufen können (Verf. studiert dieselben noch weiter), verdienen auch Resorcinlösungen von $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$ und selbst $^1/_{10000}$ angewandt zu werden wegen der Schönheit des Farbentones und weil die Kerne deutlicher als mit andern Mitteln hervorzutreten scheinen. Die Achsenzylinder sind schön imprägniert

und mit ihren Fibrillen leicht zu verfolgen. Um die Fibrillen gut sichtbar zu machen, muß man die Fixierung, soweit möglich, mit isotonischen Flüssigkeiten ausführen. Verf. wird später geeignete Flüssigkeiten mitteilen. *Schiefferdecker (Bonn).*

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Lésage, Culture de l'amibe de la dysenteris des pays chauds (C. R. Ac. Sc. t. CXXXIX, p. 1237—1239; Ann. de l'Inst. Pasteur t. XIX, 1905, no. 1, pp. 9—16 av. 1 pl.).

Verf. kultivierte eine Amöbe, die dem Darmschleim von an tropischer Dysenterie Erkrankten entstammte.

Um einen an Nährstoffen armen Nährboden zu erhalten, werden Schalen mit Nähragar 8 Tage lang unter einem starken Wasserstrom gewaschen, dann werden sie sterilisiert und bei einer Temperatur von 18—25^0 zur Kultur verwandt. Einige Tage nach der Impfung[1] erhält man kleine Amöben, die man in andere Schalen in bestimmtem Abstand von einer Kolonie irgendwelcher gewöhnlichen, für die Amöben unschädlichen Mikroben (Verf. gebraucht Paracoli) bringt. Hat die Amöbe die Kolonie erreicht, so überträgt man sie in eine weitere Schale, nach einer gewissen Zahl von Überimpfungen erhält man eine reine Mischkultur (Amöbe + Paracoli). *G. Seliber (Paris).*

Thiroux, Recherches morphologiques et expérimentales sur Trypanosoma paddae (Ann. de l'Inst. Pasteur 1905, t. XIX, no. 2, p. 65—83 av. 1 pl.).

Verf. gebrauchte für die Kulturen Nähragar von folgender Zusammensetzung:

Fleisch maceriert	1000 g
Pepton	10 „
Seesalz	5 „
Agar	30 „

[1] Mit frischem Darmschleim oder mit ausgetrocknetem, in dem die Amöben Cysten bilden.

Ist der Nähragar bis 40^0 erkaltet, so fügt man ein gleiches Volumen oder anderthalb soviel Gänseblut hinzu. Taubenblut erwies sich als ungünstig für die Entwickelung. Man läßt die Reagensgläser während 24 Stungen in geneigter Stellung bei Laborientemperatur trocknen; dann werden sie mit Gummistöpseln versehen und in vertikaler Stellung in einen Trockenschrank (bei 37^0) gebracht. Nach 24 Stunden wird das Kondensationswasser mit Hilfe des Blutes, das man vom Herzen des Sperlings nimmt, geimpft.

In solchen Kulturen fangen die Protozoën am 8. oder 9. Tage an sich zu vermehren; am 12. bis 15. Tage bemerkt man Involutionsformen; die Trypanosomen behalten ihre Beweglichkeit länger als 40 Tage. —

Die Trypanosomen haben in den Kulturen geringere Dimensionen als im frischen Blute. Unter den Involutionsformen sind viele hantelförmig, andere rund; die letzteren bestehen aus einem Haufen von lichtbrechenden Kügelchen. Verf. glaubt, daß diese Segmentierung des Protoplasmas einen Übergang zur Cystenbildung darstellt.

Verf. färbte seine Präparate nach der Methode von Laveran mit Eosinblau Borrel und Tannin (im Thermostaten bei 53 bis 54^0); Kern und Geißel wurden rotviolett, das Centrosom tiefviolett gefärbt.

An nicht intensiv gefärbten Präparaten beobachtete der Verf. vor und hinter dem Zellkern helle nicht scharf abgegrenzte Räume, offenbar wenig chromophile Protoplasmateile, aber keine Vakuolen.

G. Seliber (Paris).

Gadzikiewicz, W., Über den feineren Bau des Herzens bei Malakostraken (Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XXXIX, 1904, p. 203—234 m. 6 Figg. u. 4 Tfln.).

Die zur Untersuchung dienenden Meeresformen wurden aus Neapel bezogen und waren teils in Pikrinsäure, teils mit Sublimat fixiert. Für Gammarus und Porcellio wandte Verf. entweder die Henningssche[1] oder die Gilsonsche Flüssigkeit an. Beide geben sehr gute Resultate, das Chitin ist weich und läßt sich gut schneiden. Trotzdem wurde, wo immer möglich, die Cuticula entweder vom ganzen Körper abpräpariert oder das Herz allein verarbeitet. Für kleinere Objekte empfiehlt es sich auch, da das Herz direkt unter der dorsalen Cuticula liegt, nur die ventrale weg zu präparieren und das Objekt derartig beim Schneiden zu orientieren, daß das

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XVII, 1900, p. 312.

Messer des Mikrotoms zuerst auf die von der Cuticula befreite Bauchseite trifft. — Von den verschiedenen Färbungsmethoden gibt Eisenhämatoxylin für die feineren Strukturverhältnisse unvergleichlich bessere Resultate als irgend eine andere Methode. In vielen Fällen kann sie auch für die Zellgrenzenbestimmung die Silbermethode ersetzen, wobei sie noch den Vorteil hat, so gut wie gar keine störenden Niederschläge zu geben. Verwendet wurde die Heidenhainsche Vorschrift, jedoch wurde die Einwirkungsdauer, sowohl der Eisenalaun- wie der Hämatoxylinlösung auf die Hälfte der vorgeschriebenen Zeit herabgesetzt. Zur Nachfärbung wurde Erythrosin oder das Pikrinsäure-Säurefuchsingemisch benutzt. Letztere Färbung hält Verf. wenigstens für Crustaceen als Unterscheidungsmittel für Bindegewebs- und Muskelfasern für vollständig wertlos. Häufig färben sich Muskelfasern rot und Bindegewebsfasern gelb, doch kommt auch das Umgekehrte vor. Von andern Färbungen gab noch Safranin gute Resultate. Sehr gute, den Eisenhämatoxylin ähnliche Färbungen liefert auch das Chromhämatoxylin nach Apáthy; es ist besonders für dicke Schnitte zu empfehlen. *E. Schoebel (Neapel).*

Fernandez, M., Zur mikroskopischen Anatomie des Blutgefäßsystems der Tunikaten. Nebst Bemerkungen zur Phylogenese des Blutgefäßsystems im allgemeinen (Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XXXIX, 1904, p. 323—422 m. 12 Figg. u. 4 Tfln.).

Zur Fixierung der Salpen kam mit gutem Erfolg Chromessigsäure und Flemmingsches Gemisch, für die Ascidien hauptsächlich Sublimatgemische zur Verwendung. Verf. pflichtet van Beneden und Julin vollständig bei, wenn sie betonen, daß neben Schnittpräparaten auch Ausbreitungspräparate für das Studium der Histologie des Tunikatenherzens herangezogen werden müssen. Vielleicht sind letztere sogar notwendiger als erstere. Da bei Schnitten die dünne Muskelmembran des Herzens leicht reißt, und dann bei der Weiterbehandlung gern abschwimmt, so wurde die Doppeleinbettung nach Jordan[1] angewendet. Falten im Präparat sind bei derselben zwar nicht gut zu vermeiden, aber wo solche nicht stören, ist durch sie doch wenigstens die Herstellung dünnerer Schnitte ermöglicht. Auch die gewöhnliche Paraffineinbettung mit Aufkleben der Schnitte mittels Glyzerin-Eiweiß und nachherigem Überpinseln derselben mit dünner

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XVII, 1900, p. 191.

Photoxylinlösung ist mit Vorteil anzuwenden. Gefärbt wurde für allgemeine Zwecke mit Eisenhämatoxylin mit und ohne Erythrosinnachfärbung, und speziell zum Nachweis der Mitosen mit Safranin. Die Ausbreitungspräparate des Herzens wurden ebenfalls meistens mit Eisenhämatoxylin gefärbt; daneben kam aber speziell für die Muskelstruktur auch die Vor- und Nachvergoldung nach Apáthy und zur Darstellung der Zellgrenzen die von Seeliger auch für konserviertes Material gerühmte Methylenblaumethode zur Anwendung. Verf. möchte aber für letzteren Zweck auch dem Eisenhämatoxylin den Vorzug geben. Bei der Eisenhämatoxylinfärbung müssen aber die Membranen vorher unbedingt möglichst gut ausgebreitet werden, da sonst durch ungleichmäßiges Ausziehen leicht Flecken und dergleichen entstehen. Die Dauer des Beizens und Färbens kann im allgemeinen bis zu einer halben Stunde verkürzt werden. Die Ausbreitungspräparate wurden stets in Glyzerin eingeschlossen. Die Eisenfärbung hält sich darin, besonders wenn keine Nachfärbung stattgefunden hatte, recht lange Zeit unverändert. Erwähnt wird noch, daß Ausbreitungspräparate nur von größeren Formen vorteilhaft herzustellen sind. *E. Schoebel (Neapel).*

Floyd, R., A contribution to the nervous cytology of Periplaneta orientalis, the common cockroach (Mark Anniversary Volume New York 1903, Art. XVII p. 341—357 w. 3 pl., Ref. n. Ref. in Journ. Compar. Neurol. and Psychol. vol. XIV, 1904, no. 3, p. 287—288).

Verf. hat eine Reihe von Versuchen über die Einwirkung von verschiedenen Fixierungsmitteln auf den Bau der Nervenzellen aus den Thorakalganglien von Periplaneta orientalis angestellt. Nach Fixierung in der Flüssigkeit von vom Rath, in Pikrinsäure-Formol, in der Flüssigkeit von van Gehuchten, in Sublimatlösung und in einer Chromsäure-Oxalsäuremischung zeigte sich eine mehr oder weniger starke Schrumpfung des Zellplasmas und eine Veränderung des feineren Baues. In allen Zellen dieser Präparate traten deutlich ein zentraler, dunkel gefärbter, körniger Abschnitt und eine periphere, von einem Fibrillennetzwerk gebildete Zone hervor. In den Nervenfasern zeigten die Fibrillen ebenfalls Anastomosen. Frische, lebende Ganglienzellen nach Färbung mit Nissls Methylenblau in physiologischer Kochsalzlösung zeigten nur eine geringe Schrumpfung des Zellplasmas oder gar keine. Sie ließen durchaus keine Zellmembran erkennen und zeigten auch nichts von den sich stark färbenden

Körnchen, die charakteristisch für das fixierte Gewebe sind, obgleich die Fibrillennetze deutlich hervortraten. Diese normale Struktur zeigten auch Zellen, welche durch Formoldämpfe fixiert, mit Methylenblau gefärbt und mit Ammoniummolybdat fixiert worden waren. Verdünntes Formol und verdünnter Alkohol werden für größere Gewebestücke empfohlen. Die chromophilen Körner der Nissl-Substanz sind nach Verf. nicht als ein normaler Bestandteil anzusehen, sondern treten in dem Zellplasma erst als postmortale Veränderung auf oder während der Einwirkung der meisten Fixierungsmittel. Die Nissl-Substanz ist durch Färbung nicht darstellbar nach Behandlung der Zellen mit Ätznatron, nach längerer Faradisation, wahrscheinlich auch nicht nach Strychninvergiftung; Arsenikvergiftung veranlaßt eine Zunahme der Substanz. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Hoffendahl, K., Beitrag zur Entwicklungsgeschichte und Anatomie von Poecilasma aurantium Darwin (Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontogen., Bd. XX, 1904, p. 363—398 m. 4 Tfln.).

Zur Untersuchung diente Material der deutschen Tiefsee-Expedition, das teils mit 80prozentigen Alkohol, teils mit 80prozentigem Formol-Alkohol konserviert worden war. Mit beiden Methoden ist aber keine sehr befriedigende Fixierung erzielt worden, wie besonders die Untersuchung der jüngsten festsitzenden Cyprisstadien und der histologischen Details ergab. Die Tiere wurden, eventuell nach Entkalkung der Schalen mittels Pikrinsäure, in Nelkenöl aufgehellt und gezeichnet, dann in Paraffin eingebettet und in Schnittserien zerlegt. Gefärbt wurde teils nach der Heidenhainschen, teils nach der van Giesonschen Methode oder mittels Hämalaun. Die Mundteile, Beine und der Penis wurden von einigen Exemplaren abpräpariert und nach Aufhellung in Nelkenöl in toto in Kanadabalsam eingeschlossen. *E. Schoebel* (*Neapel*).

Heath, H., The Nervous System and Subradular Organ in two Genera of Solenogastres (Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontogen., Bd. XX, 1904, p. 399—408 w. 1 plt.).

Zur Fixation eignet sich vor allem 50prozentiger Alkohol, der nach ungefähr einstündiger Einwirkung allmählich auf 85 Prozent verstärkt wird. Dabei ist nur die Vorsicht zu gebrauchen, daß die Temperatur des schwachen Alkohols nicht die Temperatur von 15° C. übersteigt, um einer Mazeration vorzubeugen. Kommt es bei der

Fixation nicht auf die Erhaltung der Kalkstacheln an, können mit Vorteil auch andere Fixierungsflüssigkeiten Verwendung finden. Formol und Sublimat geben aber im besten Falle nur mittelmäßige Resultate, gute dagegen Sublimat-Eisessig und das Gilsonsche Gemisch, ebenso auch die Flemmingsche Flüssigkeit, abgesehen von der oft störenden Schwarzfärbung der Gewebe. In mancher Beziehung verdient das vom Rathsche Gemisch, vor allem bei Nachbehandlung der Objekte mit einprozentiger Holzessiglösung, vor allen anderen Fixierungen den Vorzug, hauptsächlich zur Untersuchung des Nervensystems. Für die Färbung eignet sich Delafields Hämatoxylin und Heidenhains Eisenhämatoxylin, kombiniert mit einer schwachen Rubinfärbung, am besten. *E. Schoebel (Neapel).*

B. Wirbeltiere.

Ziegler, K., Histologische Untersuchungen über das Ödem der Haut und des Unterhautzellgewebes (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 3, p. 435—505 m. 8 Figg. i. Text).

Die von menschlichen Leichen herrührenden Hautstücke wurden durchschnittlich 5 bis 12 Stunden nach dem Tode, einzelne auch bald nach dem Tode, durch Einstichinjektion mit 10prozentiger Formollösung fixiert, in Alkohol nachgehärtet und in Celloïdin eingebettet. Färbung der Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin, nach van Gieson, mit polychromem Methylenblau und mit Eisenhämatoxylin und Nachfärbung nach van Gieson (Maximow). Letztere Methode färbt die Zellkerne und ihre Einschlüsse, die Zentrosomen (nur in lebend fixierten Zellen), die elastischen Fasern und die Markscheiden der Nervenfasern schön schwarz, die Fasern des Bindegewebes rot, undifferenziertes Protoplasma graugelblich. Dieselbe scheint Verf. zur Unterscheidung der fixen von den freien Zellelementen ganz unentbehrlich. Das polychrome Methylenblau läßt die Beschaffenheit der Bindegewebszellen deutlich hervortreten und färbt die Granula der Ehrlichschen Mastzellen metachromatisch violettrot. *Schiefferdecker (Bonn).*

Keinath, K. Th., Über den mikroskopischen Nachweis von Fett in normalen Muskeln (Inaug.-Dissertation Tübingen 1904, 32 pp.).

Kleine Muskelstückchen wurden in 5prozentiger Formollösung fixiert, ausgewaschen und mit dem Gefriermikrotom geschnitten. Färbung meist in 70prozentiger Alkoholsudanlösung, anfangs auch in Natronlaugesudan. Letztere Methode wurde verlassen, da bei der kurzen Färbezeit die Schnitte leicht überfärbt wurden und dann Niederschlag eintrat. Durch 70prozentige Alkoholsudanlösung und nachherige Kernfärbung mit Hämatoxylin konnte das Fett am deutlichsten sichtbar gemacht werden. Die primäre Osmierung hatte den Vorteil, daß das Fett des Perimysiums, das beim Schneiden intensiv schwarz war, nicht zu sehr über das Präparat verstreut wurde, doch färbte sich das Fett um die Kerne der Muskeln von ausgewachsenen Individuen nur sehr wenig, manchmal gar nicht. Dabei hatten die Stücke so lange in Flemmingscher Lösung gelegen, daß sie hinreichend durchtränkt sein mußten. In so behandelten Schnitten färbte sich das Fett nachträglich mit Sudan schwarzrot. Wo Verf. an demselben Muskel auch noch die sekundäre Osmierung anwandte, färbten sich die Fetttröpfchen an sehr wenig Stellen und blieben im übrigen ungefärbt. Daß mit Sudan weit mehr Fetttropfen sichtbar gemacht werden konnten, ist wohl darin begründet, daß dieses alles Fett färbt, Osmiumsäure dagegen nur Ölsäure und Oleïn.

Schiefferdecker (Bonn).

Weidenreich, F., Studien über das Blut und die blutbildenden und -zerstörenden Organe. 2. Bau und morphologische Stellung der Blutlymphdrüsen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1904, p. 1—77 m. 6 Figg. u. 5 Tfln.).

Die fraglichen Drüsen finden sich — Verf. untersuchte speziell das Schaf — im retroperitonealen Fettgewebe abwärts von den Nieren und am Beckeneingang, und zwar vorwiegend in nächster Nähe der großen Gefäße. Auch im Mediastinalraum kommen sie vor, aber nicht so zahlreich wie im Abdomen. Auffallend ist die Unregelmäßigkeit ihres Vorkommens. Man kann oft viele Schafe durchmustern, ohne an den Prädilektionsstellen irgendwelche zu finden. Alter und Geschlecht ist dabei anscheinend ohne jeglichen Einfluß, ebenso der Ernährungszustand des Tieres. Auch die Jahreszeit spielt keine Rolle. Wie das Vorkommen variiert auch die Größe; von der Größe eines Stecknadelkopfes bis zu der einer Walnuß finden sich alle Übergänge. Die Drüsen sucht man am besten am geschlachteten und völlig entbluteten Tiere auf, nachdem der Darm

und seine Anhänge herauspräpariert sind, die Nieren aber an Ort und Stelle belassen wurden, und nimmt sie mit samt dem sie umgebenden Fett heraus. Vor dem Einlegen in die Fixierungsflüssigkeit ist es aber ratsam, das Fettgewebe abzupräparieren. Da die Kapsel leicht einreißt, ist bei dieser Manipulation Vorsicht geboten. Als ausgezeichnetes Fixationsmittel, das sowohl für das Studium der gröberen wie der feineren Verhältnisse geeignet ist, empfiehlt sich die Zenkersche Flüssigkeit. Zur Färbung eignet sich besonders die vom Verf. bereits für die Milz angegebene Dreifachfärbung mit Hämalaun, Orange und Rubin S, speziell für die Darstellung des Bindegewebes das Mallorysche Hämatoxylin oder die Chromsilbermethode nach Oppel, für elastische Fasern Resorcin-Fuchsin. Veneninjektion mit Berlinerblau gelingt leicht, indem man mit einer Pravaz-Spritze in eine Drüse einsticht und die Farblösung einspritzt. Es füllt sich dabei ohne weiteres die Vene der betreffenden Drüse und von dieser aus die Vene der benachbarten. Will man für bestimmte Zwecke eine besonders sorgfältige Fixation erzielen, so kann man auf gleiche Weise die Fixierungsflüssigkeit (Sublimat-Eisessig, Flemmingsche oder Hermannsche Lösung) injizieren. Verhältnismäßig schwierig ist die Injektion der Arterien, da dieselben so fein sind, daß sie kaum mit bloßem Auge zu erkennen sind, und es also auch unmöglich ist, eine Kanüle in sie einzuführen. Verf. verfuhr so, daß er das retroperitoneale Fett von den Nieren abwärts bis zum Rande des großen Beckens sorgfältig mit samt den Gefäßen herausnahm, alle sichtbaren durchschnittenen Arterien unterband und dann in die Aorta die Berlinerblaulösung einspritzte. Beim Unterbinden übersehene Schnittstellen machen sich bald durch Auslaufen kenntlich und man kann nun leicht das Versäumte nachholen. So gelingt es die kleinen, von der Aorta oder auch von der Arteria iliaca abgehenden und in das Fettgewebe verlaufenden Arterien zu füllen. Man sucht dann die Abgangsstelle am Hauptgefäße auf, führt dort eine feine Kanüle ein und spritzt jetzt von hier aus mit einer Pravaz-Spritze die Farblösung ein. Ist die Injektion geglückt, so umschneidet man die Drüse und bringt sie ohne weiteres in die Fixierungsflüssigkeit. —

Für das Aufsuchen der Drüsen bei kleineren Tieren empfiehlt es sich, die Tiere durch Halsschnitt sich verbluten zu lassen und dann nach Öffnung der Leibeshöhle sehr vorsichtig, ohne Verletzung von Gefäßen, den Magen und die Gedärme zur Seite zu schlagen. Man wird dann bei der Ratte z. B. die Drüsen leicht an der hin-

teren Fläche des Pankreas, sowie oberhalb der linken Nierenarterie finden. *E. Schoebel (Neapel).*

Galli, G., Ein verbesserter Mischer zur Zählung der Blutkörperchen (Münchener med. Wochenschr. Jahrg. LI, 1904, No. 13, p. 561 m. 1 Fig.).

Zur Verdünnung des Blutes wird bekanntlich ein Mischgefäß, ein sogenannter Melangeur, verwendet. Da die jetzt vorhandene Form dem Verf. nicht zu genügen schien, so hat er einen neuen Apparat konstruiert, der mit einem Saugapparat versehen ist, welcher die präziseste Aufsaugung ermöglicht, so daß die Verdünnung mit Sicherheit jedesmal rasch und leicht gelingt. Verf. hat diesen neuen Apparat mit einem Glasmantel umgeben; der Raum zwischen dem Mantel und dem eigentlichen Apparat ist luftleer gemacht, wodurch die Übertragung der Handwärme vermieden wird. Der Saugapparat kann einmal durch eine Schraube feiner bewegt werden und ermöglicht so eine sehr gleichmäßige und langsame Aufsaugung des Blutes, es kann aber auch durch eine ziehende Bewegung die Flüssigkeit rasch emporgehoben werden. Die Handhabung und Reinigung des Instrumentes soll sehr einfach und bequem sein. Wegen des Näheren der Konstruktion muß auf das Original und die dort gegebene Abbildung verwiesen werden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Jolly, J., Recherches expérimentales sur la Division indirecte des Globules rouges (Arch. d'anat. Microsc. t. VI, 1904, fasc. 4, p. 455—632 av. 4 plches.).

Die Untersuchungen wurden ausgeführt an Triton cristatus, palmatus, alpestris, punctatus. Zwischen den einzelnen Arten bestehen keine wesentlichen Differenzen. Triton cristatus ist das bequemste Tier. Um Teilungen der Blutkörperchen zu erhalten, muß man eine Blutregeneration herbeiführen. Man hat eine solche bis jetzt durch Blutentziehung veranlaßt. Will man dieses Mittel z. B. beim Frosche anwenden, so soll man wenigstens nicht ein Glied abschneiden, sondern die Spitze einer Pipette in die Vena abdominalis einführen. Verf. hat mit diesem Mittel bei Fröschen gute Resultate erhalten. Bei Tritonen sind keine so großen Gefäße vorhanden, daß man dieses Verfahren verwenden kann. Verf. hat daher die Tiere mehrere Monate lang hungern lassen und sie dann reichlich gefüttert. Die Tiere halten das Hungern vorzüglich aus. Um sie am Leben zu erhalten, legt man am besten auf den Grund einer tiefen Schale

gewaschene Kiesel und in die Mitte dieser ein Stück Ziegel. Man gießt dann so viel Wasser zu, daß dieses bis an die Oberfläche des Ziegels steigt und bedeckt dann die Schale mit einer Glasplatte, doch so, daß noch Luft zutreten kann. Die Tiere magern während der Sommermonate stärker ab als während der Wintermonate. Die Männchen magern schneller ab als die Weibchen, besonders wenn diese voll von Eiern sind. Man kann die Abmagerung beschleunigen, wenn man den Tieren keine Steine gibt, auf denen sie außerhalb des Wassers sich ausruhen können. Es schien dem Verf. aber, daß die Tritonen, welche zu schnell abgemagert waren, später die Nahrung weniger gut aufnahmen. Die Abmagerung kann einen sehr hohen Grad erreichen, ohne den Tod zu veranlassen. Schließlich bleiben die Tiere unbeweglich und können in diesem Zustande noch wochen- und monatelang leben. Diesen äußersten Zustand der Abmagerung darf man aber nicht eintreten lassen, denn solche Tiere nehmen die Nahrung nicht mehr in richtiger Weise auf. Man erkennt den Grad der Abmagerung am Anblicke des ganzen Körpers und besonders des Schwanzes, der seine dorsalen und ventralen Verbreiterungen verliert und sich der zylindrischen Form nähert. Dieses ist ein gutes Kennzeichen für den Grad der Ernährung. Am besten fängt man die Tritonen im Frühjahre (Februar, März, April) und läßt sie hungern, man kann sie dann von Ende Juni bis in den November hinein verwenden. Tritonen, welche im Juni oder Juli gefangen sind, kann man von September bis Februar brauchen. Um sie zu füttern, setzt Verf. die Tiere in eine hinreichend breite Schale mit Larven von Chironomus. Zuerst füllt sich nun der Darmkanal, dann tritt eine Abschuppung der Haut ein, welche das sichere Kennzeichen ist, daß ein lebhafter Stoffwechsel eingetreten ist (gewöhnlich 48 Stunden nach der ersten Mahlzeit), dieselbe setzt sich, wenn auch weniger deutlich, fort. Etwa 10 bis 12 Tage nach dem Beginne der Fütterung treten die ersten Mitosen in den roten Blutkörperchen auf. Verf. hat vergleichsweise das fixierte und gefärbte Blut und das frische und lebende Blut untersucht. Um Präparate von fixiertem Blute herzustellen, breitet Verf. das Blut auf einem Deckgläschen dadurch in dünner Schicht aus, daß er mit dem Rücken eines anderen Gläschens darüberfährt; dann wird das frische Blut sofort fixiert, entweder mit Sublimat oder noch besser mit der folgenden modifizierten Flemmingschen Lösung, bei der der Essigsäuregehalt herabgesetzt ist:

Chromsäure, einprozentige Lösung	30	Vt.
Osmiumsäure, einprozentige Lösung	15	„
Essigsäure	0·5	„

Dauer der Fixierung 10 Minuten, doch kann man ohne Schaden die Präparate 24 Stunden und länger in der Fixierungsflüssigkeit lassen. Das Fixierungsmittel wirkt wie eine Beize, welche die Färbung begünstigt. Nach sorgfältigem Auswaschen in fließendem Wasser oder in einer größeren Menge öfters gewechselten Wassers kann man mit den meisten Farbstoffen färben. Am günstigsten erwiesen sich: Thionin, Safranin mit nachfolgender Färbung in der Bendaschen Mischung oder ohne solche, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. So erhält man ausgezeichnete Kernteilungsfiguren. Benutzt man eine Flemmingsche Lösung ohne Essigsäure, also eine Chrom-Osmiummischung, so erhält man ziemlich gute Resultate in bezug auf die Fixierung des Hämoglobins und des Kernes, doch ist dieser natürlich nicht so gut fixiert, als wenn man Essigsäure mit verwendet. — Um Blut von Triton zu erhalten, kann man entweder den Schwanz an seiner Basis abschneiden, oder man kann das Blut dem Herzen entnehmen (bedeutend besser). Man muß möglichst reines Blut nehmen, ohne Beimischung von Gewebssäften, wodurch die Gerinnung beschleunigt wird. Verf. schneidet daher die Spitze des Herzens ab und führt eine Pipette ein. — Um das frische Blut zu studieren, kann man verschieden verfahren. Am einfachsten nimmt man einen Objektträger, der mit zwei kleinen Paraffinstreifen versehen ist, auf welche später das Deckglas gelegt wird: das Blut ist vor Druck geschützt und um den Blutstropfen verbleibt eine gewisse Luftmenge. Man schließt mit Paraffin ein. Der Blutstropfen muß abgerundet im Zentrum liegen. Verf. hat weiter die feuchte Kammer benutzt mit hängendem Tropfen. Hier stört die Menge der Blutkörperchen, jedenfalls darf man nur die Randpartieen untersuchen, außerdem bewegen sich die Körperchen stets etwas. Verf. gibt der ersteren Methode den Vorzug. — Um die Blutkörperchen bei höheren Temperaturen zu studieren, hat Verf. sich der Apparate von Malassez und Regaud bedient. *Schiefferdecker (Bonn).*

Helber, E., Über die Zählung der Blutplättchen im Blute des Menschen und ihr Verhalten bei pathologischen Zuständen (Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI, 1904, H. 3, 4, p. 316—327).

Die Angaben über die Zahl der Blutplättchen lauten bis jetzt

sehr verschieden. Dies kann an unregelmäßigen Schwankungen der Plättchenzahl liegen, es kann aber auch daran liegen, daß man noch nicht darüber einig ist, welche Gebilde als Plättchen aufgefaßt werden sollen. Durch die neueren Arbeiten von Dekhuyzen und Deetjen wurde die Zellnatur und das Vorhandensein eines Kernes festgestellt, durch Kopsch wurden diese Annahmen bestätigt. Will man bei einer Zählung nur die diesen Bedingungen entsprechenden Plättchen zählen, so sind alle die Umstände auszuschalten, durch die eine Veränderung des Blutes während der Entnahme und der Anfertigung des Präparates entstehen kann. Denn Veränderungen der Erythrocyten und Leukocyten führen zu Abschnürungen von Teilen derselben und diese können dann mit den eigentlichen Plättchen die größte Ähnlichkeit haben, eine so große Ähnlichkeit, daß selbst Forscher wie Arnold und seine Schüler sie mit den früher von Bizzozero beschriebenen Plättchen völlig identifizieren. Durch physikalische Veränderungen des Blutes, z. B. durch eintretende Gerinnung, treten die sogenannten Arnoldschen Körperchen aus den roten Blutkörperchen aus. Auch die Blutstäubchen sind nicht unter die Blutplättchen zu rechnen. Früher wurde das Verhältnis der Plättchen zu den roten Blutkörperchen in frischen oder in Trockenpräparaten bestimmt und daraus die Plättchenzahl ausgerechnet. Dies ist neuerdings sehr erleichtert worden durch die Entdeckung Deetjens von der Bedeutung des Natriummetaphosphats für die Erhaltung der Plättchen, die extravasculär sehr labiler Natur sind. Aber auch hierbei sind noch Schwierigkeiten und Unsicherheiten vorhanden. Die Zahl der Plättchen ist immer wesentlich (etwa 15mal) kleiner als die der roten Blutkörperchen, man muß also, um eine ausreichende Zahl der Plättchen zu bekommen, sehr viele Erythrocyten zählen. Ferner hat das Mischen von Blut- und Salzlösung durch Verreiben auf dem Objektträger mittels Platinöse ebenfalls seine Nachteile, da es nicht leicht ist, eine gleichmäßige Verteilung zu erzielen. Die Zählung mittels der Thoma-Zeissschen Kammer ergab keine besseren Resultate. Zwar läßt sich das Haften der Plättchen am Glase verhindern, wenn man mit gereinigten Gläsern und schnell arbeitet. Aber die gewöhnlichen Kammern sind so hoch, daß die Plättchen sich bei ihrer Kleinheit in den verschiedenen Höhenschichten verteilen und somit nur ein Teil auf den Boden der Kammer zu liegen kommt. Das Aufsuchen der in verschiedenen Höhenlagen schwimmenden Plättchen mittels der Mikrometerschraube, besonders in den oberen Teilen der Kammer, wobei die Kammerstriche anfangen unsicher zu werden, macht die

Zählung sehr unsicher. Erschwert wird sie ferner dadurch, daß wegen des großen Abstandes des Deckgläschens von dem Quadratnetze stärkere Objektive wegen ihres geringen Fokalabstandes nicht anwendbar waren. Will man aber die Plättchen als solche sicher erkennen und von andern Gebilden des Blutes, insbesondere den Abkömmlingen der roten Blutscheiben sicher unterscheiden, so ist mindestens eine Vergrößerung von 500 nötig. Nach vielem Probieren erwies sich das folgende Verfahren als brauchbar: Die Firma C. Zeiss fertigte eine Zählkammer von 0·02 mm Höhe an. Sonst gleicht diese vollkommen der gewöhnlichen 0·1 mm hohen Kammer zur Blutkörperchen-Zählung. Bei dieser neuen Kammer fällt die lästige Durchmusterung der verschiedenen Höhenlagen fast weg. Wenn man das 0·1 mm dicke Deckgläschen von Zeiss verwendet, so können auch stärkere Objektive benutzt werden. Zweckmäßig erwiesen sich die Wasserimmersion D und das Trockensystem E. Bei Verwendung des Kompensationsokulars 12 konnten dann Vergrößerungen bis zu 1080 erzielt werden. Diese reichten bei guter Beleuchtung vollkommen aus, um die Plättchen sicher zu erkennen und von allen andern Gebilden ohne Schwierigkeit zu unterscheiden. Meistens wurde mit E und Kompensationsokular 6 gearbeitet. Das Blut wurde aus dem vorher mit Alkohol und Äther gereinigten Ohrläppchen entnommen und in einem Mischer (Verdünnung 1 : 31), der mit Salpetersäure, Wasser, Alkohol, Äther sorgfältig gereinigt war, bis zur Marke 1 aufgesogen und weiter schnell durch eine 10prozentige Natriummetaphosphatlösung bis zur Marke 31 verdünnt. Der Mischer wurde geschüttelt und sofort ein kleiner Tropfen auf den Boden der Kammer gebracht. Wenn die Mischung in der Ampulle bei durchfallendem Lichte hell und bei auffallendem stark lichtreflektierend ist, so ist das Präparat meist gut (Deckfarbe). Eine Mischung, die Lackfarbe zeigt, ist stets unbrauchbar. Werden beim Einstechen in das Ohrläppchen Quetschungen vermieden, und sind die Gläser immer sauber, so werden stets brauchbare Bilder erzielt. Die Metaphosphatlösung ist sehr wenig haltbar, so daß sie am besten ungefähr alle 3 Tage neu bereitet und vor dem Gebrauche filtriert wird. Das in dieser Weise zubereitete Präparat soll das folgende Bild zeigen: Die roten Blutkörperchen liegen völlig intakt, mit Delle versehen, nebeneinander auf dem Boden der Kammer, keine Geldrollenbildung; zwischen den roten Blutscheiben liegen ziemlich gleichmäßig verteilt rundliche oder ovale, stärker lichtbrechende, mit dunkleren Stellen, besonders an den Randpartien, versehene, völlig farblose Körperchen

von etwa ein Drittel der Größe der roten Blutkörperchen. Sie liegen einzeln oder zu zweien, dreien, jedoch deutlich voneinander abgrenzbar. Man sieht auch größere Plättchen von etwa der halben Größe der roten Blutscheiben, die sich wohl in gequollenem Zustande befinden. Nicht sämtliche Plättchen sind rund oder oval, ein Teil, besonders wenn eine leichte Beschädigung stattgefunden hat, ist unregelmäßig zackig. Leukocyten sind bei der Kleinheit der Kammer nur in kleiner Anzahl vorhanden. Hat das Blut Schaden gelitten, so kann man sehr gut Abschnürungsprodukte von den Erythrocyten beobachten; diese sind dann rund und kugelig, der größte Teil zeigt auch, wenigstens im Anfange noch, deutlich Hämoglobinfarbe. Solche Präparate sind von der Zählung stets auszuschließen, ebenso diejenigen, in denen die Plättchen deutliche Haufen über 6 bis 8 bilden oder die roten Blutkörperchen agglutiniert sind. Man kann somit in der Kammer gleichzeitig Erythrocyten, Plättchen und Leukocyten zählen. Die Zahl der letzteren ist wegen der Kleinheit der Kammer etwas ungenau. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Meyburg, H., Beitrag zur Kenntnis des Stadiums der „primären in toto konzentrischen" Knochenbildung (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXIV, 1904, p. 627—652 m. 8 Figg.).

Als Material zu den anzufertigenden Schliffen dienten Knochen vom Rind, Schaf, Kamel, Pferd und Ziege. Es wurden teils macerierte Knochen verwandt, teils solche, die, nachdem sie etwa 3 Wochen in 4prozentiger Formollösung und darauf in 96prozentigem Alkohol gelegen hatten, getrocknet worden waren. Die mit der Säge hergestellten Knochenscheiben wurden zunächst mittels Feilen zu dünnen Lamellen bearbeitet und dann erst fertig geschliffen und poliert. Diese Methode gestattet ein außerordentlich schnelles Arbeiten und die Anfertigung großer Übersichtsschliffe. Geschliffen wurden fast durchweg Metacarpi und Metatarsi, und zwar quer, radial und tangential. *E. Schoebel* (*Neapel*).

Borchert, M., Über Markscheidenfärbung bei niederen Wirbeltieren (Verhandl. der Berliner Physiol. Ges. Sitz. 6. Mai 1904, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1904, Physiol. Abt., H. 5, 6, p. 572—575).

Die Osmiumsäure wird, wie Max Schultze zuerst gezeigt hat, durch das gesamte Gewebe des Zentralnervensystems reduziert. Die

intensivste Reduktion erfolgt in den Markscheiden der markhaltigen Nervenfasern. Aus dem zwischen den markhaltigen Nervenfasern gelegenen Gewebe lassen sich die Osmiumsäure-Reduktionsprodukte durch Differenzierungsflüssigkeiten (am besten durch die von Pal angegebene Differenzierung mittels Kali hypermanganicum und darauf folgende Behandlung mit Kali oxalicum und Kali sulfuricum) vollständig entfernen, so daß die markhaltigen Nervenfasern schwarz auf weißem Grunde liegen. Für die systematische Untersuchung der Hirnfaserung ist die Osmiumsäure nur von Exner und Tuczek angewendet worden. Für die Hirnfaseranatomie der niederen Wirbeltiere ist sie niemals angewendet worden, obwohl die Gehirne hier so klein sind, daß sie sich anwenden ließe. Bei niederen Wirbeltieren ist aber die Weigertsche Markscheidenfärbung oft mit größeren Schwierigkeiten verbunden. Nur eine viele Monate währende Vorbehandlung mit Müllerscher Flüssigkeit läßt gute Weigert-Präparate erhoffen, und auch dann ist der Erfolg noch unsicher. Noch schwieriger liegt die Sache bei jugendlichen, noch nicht markreifen Gehirnen niederer Wirbeltiere. Die Chromhämatoxylinlacke werden bei der Weigertschen Methode in dem zwischen den markhaltigen Nervenfasern gelegenen Gewebe mit besonderer Zähigkeit festgehalten und lassen sich selten ohne schwere Schädigung der Faser daraus entfernen. Dem gegenüber gelingt es hier, mit der Osmiumsäurebehandlung in 3 bis 4 Tagen lückenlose Serien von Markscheidenpräparaten zu erhalten, die hinter den schönsten Weigert-Präparaten nicht im geringsten zurückstehen. Diese Methode ist dabei ungemein einfach, versagt nie und eignet sich in gleicher Weise für jugendliche wie für erwachsene Gehirne. Im Gegensatze zu der Weigert-Methode leidet sie unter der Paraffineinbettung nicht, gestattet also die Herstellung auch feinster Schnitte. Ein weiterer Vorzug der Osmiummethode ist die Möglichkeit der Stückfärbung des Gehirns. Methode: Die Gehirne, die dem Verf. in 10prozentiger Formollösung von der zoologischen Station in Neapel zugesandt waren, wurden in 3 mm dicke Scheiben zerlegt. Diese kommen für 24 Stunden in einprozentige Osmiumsäurelösung, dann für mehrere Stunden in destilliertes Wasser, steigenden Alkohol, werden in Paraffin eingebettet und geschnitten. Schon jetzt zeigen die Präparate einen schönen Kontrast zwischen grauer und weißer Substanz. Solche Präparate geben eine Kontrolle dafür ab, ob und in wie weit durch die Differenzierung markhaltige Nervenfasern zerstört werden. Eine solche Kontrolle kann in Fällen von pathologischem Faserausfall von großer Bedeutung

werden. Eine solche Kontrolle fehlt bei der WEIGERTschen Methode. Die übrigen Schnitte werden nach PAL differenziert, d. h. sie kommen für wenige Sekunden in eine 0·25prozentige Lösung von Kalium hypermanganicum, werden dann kurz abgespült und kommen für kurze Zeit in eine Lösung von:

Acid. oxal	1·0
Kalium sulf.	1·0
Destilliertes Wasser	200·0

Nach beendigter Differenzierung mehrstündiges oder noch längeres Auswaschen in häufig gewechseltem oder fließendem Wasser, damit auch die kleinsten Spuren von Differenzierungsflüssigkeit entfernt werden. Dann Entwässerung, Aufhellung, Kanadabalsam. Verf. ist nach seinen Untersuchungen der Meinung, daß die Osmiumsäurebehandlung für die systematische, faseranatomische Untersuchung des erwachsenen und fötalen Selachiergehirns (hierauf beziehen sich bisher die Untersuchungen) die Markscheidenfärbung von WEIGERT-PAL völlig ersetzt und wesentliche Vorzüge vor ihr hat. Der einzige Nachteil dieser Methode ist der, daß sie auf kleinere Gehirne beschränkt ist. Frisches Torpedogehirn direkt mit Osmiumsäure behandelt zeigte eine ebenso gelungene Markscheidenfärbung, wie das zuerst mit Formol behandelte, nur zeigen die Präparate, bevor sie differenziert sind, einen weniger scharfen Kontrast zwischen grauer und weißer Substanz, da die zwischen den markhaltigen Nervenfasern gelegene Substanz stärker mit gefärbt ist. *Schiefferdecker (Bonn).*

Cajal, S. R., Das Neurofibrillennetz der Retina (Intern. Monatsschr. für Anat. u. Physiol. Bd. XXI, H. 4—8, 1904, p. 369—396 m. 1 Tfl.).

Die Silbermethode von CAJAL ist schon in dieser Zeitschrift ausführlich mitgeteilt worden; CAJAL gibt in der vorliegenden Arbeit nur eine kurze Mitteilung darüber, in welcher Weise seine Methode speziell für die Retina anzuwenden ist. 1. Methode: 1. Frische Stücke von Netzhaut und Sclera werden drei Tage lang im Wärmeofen bei 30 bis 35° C. in einer 1·5prozentigen Lösung von Silbernitrat gelassen. (Man kann auch Lösungen von 0·75 bis 3 Prozent verwenden.) 2. Waschen in destilliertem Wasser wenige Sekunden und Einlegen für 24 Stunden in folgende Mischung: Dest. Wasser 100 cc, Hydrochinon oder Pyrogallussäure 1 g, Formol 5 bis 10 cc. 3. Auswaschen der Stücke in dest. Wasser wenige Minuten, steigender Alkohol,

Celloidin, Origanumöl, Xylol-Damar. Die Imprägnation betrifft gewöhnlich alle Zellen, welche ein differenziertes Neurofibrillennetz besitzen. Doch trifft man auch Stellen, an welchen nur eine Zellart oder nur einige Zellen gefärbt sind, solche sind besonders geeignet zu einer genauen Untersuchung. Je länger die Stücke im Ofen bleiben, desto größer ist die Gefahr, Imprägnationen ohne Kontrast zwischen Grund und Fibrillen zu erhalten. Im allgemeinen ist bei einer Temperatur, welche nicht über 32° C. hinausgeht, die Reife der Stücke (Zeitpunkt des größten Kontrastes) zwischen dem 3. und 4. Tage erreicht. Starke Silberlösungen (3 Prozent) ergeben eine sehr gute Fixierung, aber geringere Kontraste als weniger starke Lösungen (1 bis 1·5 Prozent). Die 0·75prozentige Lösung ergibt eine sehr intensive und kontrastreiche Färbung des Netzes, jedoch schrumpft das Protoplasma zu sehr, so daß oft eine Lücke zwischen Zellmembran und Neurofibrillenplexus entsteht. Deshalb hat Verf. hauptsächlich Lösungen von 1·2 oder 1·5 Prozent verwendet, namentlich bei der dünnen Netzhaut von Kaninchen und Meerschweinchen. Dicke Retinae, welche eine große Menge von Silbernitrat absorbieren, verlangen, wenn die Flüssigkeitsmenge nicht groß ist, höhere Konzentration. 2. Methode: Fixierung durch Ammoniakalkohol. Zur Färbung der großen Netzhautzellen der großen Säugetiere (Hund, Schaf, Pferd etc.). 1. Die Netzhautstücke kommen für 24 Stunden in eine Mischung von 50 cc Alkohol von 96 Prozent und 5 Tropfen Ammoniak. 2. Abspülen einige Sekunden in destilliertem Wasser und Einlegen in eine einprozentige Lösung von Silbernitrat auf ungefähr 4 Tage (Ofen, 30° C.). 3. Reduktion, Härtung, Einbettung etc., wie bei Methode 1. Verf. setzt manchmal der Fixierungsflüssigkeit 5 Teile Glyzerin auf 100 Teile Flüssigkeit zu: es scheint dies den Grund durchsichtiger zu machen. Wenn man dem Reduktionsbade 20 Teile Alkohol von 96 Prozent auf 100 cc zusetzt, scheint der Unterschied zwischen dem Grunde und den Neurofibrillen etwas größer zu werden. Bei dieser Methode der alkalischen Fixierung färben sich hauptsächlich die großen Ganglienzellen und die Horizontalzellen oft schokoladenbraun; für die mittleren und kleinen Ganglienzellen ist diese Methode nicht so gut wie die vorige. Es scheint, daß das Fibrillennetz der kleinen Zellen durch die alkalische Flüssigkeit verändert wird, denn es nimmt das Silber oft nicht an. Diese beiden eben empfohlenen Methoden ergeben auch bei Nervenzentren gute Resultate, wenn man das Silber einen oder 2 Tage länger einwirken läßt. Verf. hat ferner oft zugleich mit den Zellen der Netzhaut sehr gute Färbungen der

Neurofibrillen in den motorischen Nervenendigungen der Augenmuskeln (junge Kaninchen, einige Tage alte Sperlinge etc.) sowie der elastischen Fasern und der Muskelfasern erhalten. In den Muskelfasern sieht man außer den dunklen Querstreifen ein interfibrilläres Netz, welches wahrscheinlich dem Sarkoplasma entspricht. Die Theorie dieser Methode ist noch nicht klar. Der schwierigste Punkt der Imprägnation ist die Feststellung der Reifezeit der organischen Silberverbindung. Man muß in jedem einzelnen Falle die günstigste Zeit für die Reduktion feststellen. Die Einwirkung der Wärme ist wohl vergleichbar dem Einflusse des Lichtes auf die Photographie. Trotz der Einfachheit der Methode und ihrer konstanten Resultate sind nicht alle Präparate gleich gut in bezug auf die Schärfe der Neurofibrillen und die Vollständigkeit der Färbung. Diese Verschiedenheiten hängen zweifellos ab von der Art des Tieres, seinem Alter (bei jungen Tieren ist die Reaktion gewöhnlich stärker) und noch von verschiedenen anderen bisher unbekannten Dingen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Hardesty, I., On the Development and Nature of the Neuroglia (Amer. Journ. Anat. vol. III, 1904, no. 3, pp. 229—268 w. 5 pltes.).

Untersucht wurde an Schweineembryonen. Fixiert wurde in der Flüssigkeit von Carnoy. Paraffinschnitte, Färbung mit Hämatoxylin und Congorot, welch letzteres die Zellgrenzen sehr gut hervortreten läßt, ferner mit der Neurogliamethode von Benda nach der Modifikation von Huber. Für fibröses Bindegewebe wurde oft die Methode von Mallory verwendet. Zur Vergleichung und Kontrolle wurde die Silbermethode benutzt, die bei Tieren unter 10 mm Länge keine Resultate ergab. Es wurde die schnelle Golgische Methode verwendet und Silberimprägnation nach Formalinhärtung. Nach der nötigen Übung gelang es, bei Tieren über 10 mm erfolgreiche Färbungen zu erhalten und auch bei jüngeren waren die Resultate befriedigend. Auch die Pankreatin-Verdauungsmethode wurde benutzt; die jüngsten hierzu verwendeten Stadien maßen 15 mm. Zur Zeit des Beginns der Markreife wurde Osmiumsäure verwendet. Durch die Bendasche Neurogliafärbung werden die Neurogliafasern und das Kernchromatin tief blau gefärbt. Die gewöhnliche Beschreibung der Neuroglia bezieht sich eben nur auf Fasern, welche sich blau zu färben vermögen. Es ist dabei aber wohl möglich, daß nur die voll entwickelten Fasern diese Fähigkeit besitzen. Andere Formen des nicht nervösen Gewebes des Rückenmarks werden braunrot oder in

verschiedenen Nuancen von rosa (pink) gefärbt. In den frühen Entwicklungsstadien des Schweines, bevor die Neurogliafasern entwickelt sind, färben sich die Kerne allein blau. Das allgemeine spongioblastische Gewebe wird hinreichend rötlich gefärbt, um Struktur und Anordnung zu erkennen, Zellgrenzen treten dabei aber nicht hervor. Es wurden daher in diesen Fällen noch andere Methoden angewendet. Bei der erwachsenen Neuroglia dagegen übertrifft die Methode von Benda alle anderen in bezug auf klare Darstellung der Details der Neurogliafasern und Schärfe des Kontrastes.

Schiefferdecker (Bonn).

Rubaschkin, W., Studien über Neuroglia (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXIV, 1904, p. 575—626 m. 4 Tfln.).

Mit der Weigertschen Methode konnte Verf. keine befriedigenden Resultate erhalten, da ihm kein vollständig frisches Material vom menschlichen Gehirn zur Verfügung stand; zu befriedigenden Resultaten aber führte folgende Methode, die auch zur Untersuchung der Glia im Gehirn von Tieren verwendbar ist. Besonders gute Resultate gibt das Katzengehirn. Für das Gelingen der Methode wesentlich ist die Injektion der Gehirngefäße mit der fixierenden Flüssigkeit. Diese wird an dem frischen mittels Chloroform getöteten Tier durch die Aorta oder Art. carot. comm. oder sonst geeignetes Gefäß ausgeführt. Als tauglich für die Weiterbearbeitung sind nur diejenigen Hirnbezirke anzusehen, welche von der fixierenden Flüssigkeit getroffen, d. h. deutlich gelbgrün gefärbt sind. Die fixierende Flüssigkeit besteht aus: 100 Teilen 2·5prozentiger Lösung von doppelchromsaurem Kali, 0·5 bis 1 Teil neutrales essigsaures Kupfer, 2·5 bis 3 Teilen Eisessig und 10 Teilen käufliches Formol. Die Menge des Kupfersalzes wie die der zu seiner Auflösung notwendigen Essigsäure muß nach Art und Alter des Tieres etwas geändert werden. Für junge und kleine Tiere nimmt man 0·5, für alte und große 1, und für Katzen von mittlerem Alter 0·75 Teile des ersteren. Die fixierende Flüssigkeit wird folgendermaßen zubereitet: Der siedenden Lösung von doppelchromsaurem Kali wird das fein pulverisierte essigsaure Kupfer und dann die zur Lösung dieses Salzes notwendige Menge Essigsäure (aber nicht mehr als 3 Teile) zugesetzt. Nach höchstens 5 bis 10 Minuten langem Kochen klärt sich die Flüssigkeit und wird grün. Ist die Flüssigkeit aus irgendeinem Grunde nicht klar geworden, so muß sie filtriert werden. In diesem Zustande ohne Formol kann die Flüssigkeit beliebig lange aufbewahrt werden. Das

Formol setzt man immer erst unmittelbar vor dem Gebrauch zu. Vor der Injektion wird die zu benutzende Flüssigkeit zur Hälfte mit Wasser verdünnt und, auf 37 bis 38° C. erwärmt, in einer Menge von 200 bis 1000 cc — je nach der Größe des Tieres und der Injektionsstelle — eingespritzt. Nach 10 Minuten werden nach Eröffnung des Schädels die zur Untersuchung tauglichen Teile des Hirns ausgeschnitten und in die unverdünnte Fixierungsflüssigkeit von 35 bis 40° C. für 5 bis 7 Tage eingelegt. Die ersten 4 Tage muß die Flüssigkeit gewechselt werden. Nach beendeter Fixierung werden die Objekte, ohne vorher mit Wasser abgespült zu werden, leicht mit Fließpapier abgetrocknet, dann für 6 bis 12 Stunden in 95prozentigem Alkohol entwässert und schließlich in gewöhnlicher Weise in Paraffin eingebettet. Celloïdineinbettung ist nicht rätlich, da durch sie die Färbung sehr erschwert wird. Wenn möglich sollen auch die Paraffinschnitte nicht aufgeklebt werden, sondern die vom Paraffin befreiten Schnitte in Schalen gefärbt werden. Die Färbung stellt eine Modifikation der Weigertschen Fibrinfärbung dar. Die nicht aufgeklebten Schnitte werden 6 bis 12 Stunden (die aufgeklebten 3- bis 4mal länger) in einer gesättigten wässerigen Lösung von Methyl-Violett B oder 20 bis 30 Minuten in einer Mischung aus 3 Teilen gesättigter alkoholischer Lösung der gleichen Farbe und 1 Teil Anilinwasser gefärbt. Wässerige Lösungen geben eine zartere Färbung, Anilinlösungen dagegen nicht selten reichlichen Niederschlag auf den Präparaten. Ganz im allgemeinen ist es angebracht auf etwa 5 cc Farblösung einige Tropfen einer 5prozentigen Oxalsäurelösung zuzusetzen. Die gefärbten Schnitte kommen nach gründlichem Abspülen in Wasser für $^1/_2$ bis eine Minute in eine Jod-Jodkaliumlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300), werden dann wieder abgespült, dann $^1/_4$ bis $^1/_2$ Minute lang in 95prozentigem Alkohol entwässert und schließlich in Nelken- oder Anilinöl differenziert. Ersteres dürfte im allgemeinen vorzuziehen sein, weil es die Farbe weniger energisch auszieht, und die Differenzierung so leichter zu überwachen ist. Meist können die Schnitte ohne Nachteil sogar einige Stunden im Nelkenöl verbleiben. Tritt gelegentlich im Nelkenöl keine genügende Entfärbung ein, dann ist dieselbe doch meist noch mit Anilinöl leicht zu erzielen. Bei dieser Färbemethode nehmen die Gliafasern eine gesättigte violette Farbe an, das Zellprotoplasma färbt sich heller. In den Nervenzellen färben sich die Kerne und die Nisslschen Schollen. Die Nervenfasern bleiben ungefärbt, ebenso die Pia mater und das Bindegewebe. Zum Schluß ist noch zu er-

wähnen, daß in einigen Hirnbezirken, nämlich in der Groß- und Kleinhirnrinde, meist nur ungenügende Färbung zu erreichen ist. Leicht und mit größter Regelmäßigkeit färbt sich die Neuroglia im Rückenmark, in der Medulla oblongata, im Hirnstamm und in der Umgebung der Ventrikel. *E. Schoebel (Neapel).*

Pinkus, F., Über Hautsinnesorgane neben dem menschlichen Haar (Haarscheiben) und ihre vergleichend-anatomische Bedeutung (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1904, p. 78—95 m. 2 Tfln.).

Zur Untersuchung des nervösen Teiles der in Frage stehenden Gebilde dienten anfangs Gold- und Golgi-Präparate, welche aber nur mäßige, teils lückenhafte, teils nicht einwandsfreie Resultate ergaben. Bessere Präparate, welche namentlich die gröbere Anordnung der Nerven sehr gut darstellten, lieferte die Behandlung der frischen Hautstückchen mit Palladiumchlorürlösung während 2 bis 4 Tagen. Nach Alkoholbehandlung und der gewöhnlichen Paraffineinbettung wurde ganz sichere Schwärzung der Achsenzylinder erzielt, leider waren aber gewisse Formveränderungen, namentlich im Epithel nicht zu umgehen, und die Färbbarkeit der übrigen Gewebselemente zeigte sich stark beeinträchtigt. Ist aber erst einmal die Nervenverteilung eruiert, so genügt die gewöhnliche van Giesonsche Hämatoxylin-Pikrinsäure-Fuchsin S-Färbung oder eine der üblichen Färbungen der elastischen Fasern vollständig, um die Nerven bis in die Nähe des Epithels verfolgen zu können. Gute Übersichtsbilder über die ganze Haarscheibe und vor allem die Möglichkeit des Studiums der feineren Verhältnisse sind aber ausschließlich mit Methylenblaupräparaten (in der Modifikation von Dogiel und Bethe) zu erzielen. *E. Schoebel (Neapel).*

Ballowitz, E., Die Riechzellen des Flußneunauges [Petromyzon fluviatilis] (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1904, p. 78—95 m. 1 Tfl.).

Zur Untersuchung des aus dem frisch getötetem Tiere herauspräparierten Geruchsorgans und seiner Riechschleimhaut kamen hauptsächlich drei Verfahren zur Anwendung: 1) Mazeration und Isolierung der Epithelelemente; 2) Fixierung durch Sublimat, Sublimat-Eisessig (5 Prozent Eisessigzusatz zu konzentrierter Sublimatlösung), absoluter Alkohol und Flemmingsche Flüssigkeit, Einbettung in Paraffin, Färbung der Schnittserien hauptsächlich mit Eisenhämatoxylin nach Heiden-

HAIN; 3) Imprägnation mit Silberchromat nach der von RAMÓN Y CAJAL modifizierten GOLGIschen Methode.

Die wichtigsten Resultate wurden durch Mazeration und Isolierung erhalten. In den Mazerationsflüssigkeiten dürfen die kleinen Stücke nicht zu lange liegen, nach einem bis 2 Tagen Mazerationsdauer erhält man gewöhnlich die besten Präparate.

E. Schoebel (Neapel).

Kamon, K., Über die Geruchsknospen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXIV, 1904, p. 653—664 m. 1 Tfl.).

Die Untersuchungen wurden an der Nasen- und Mundschleimhaut von Esox und Trigla angestellt. Die ausgeschnittenen Schleimhautstücke dieser Fische wurden in ZENKERscher, FLEMMINGscher und HERMANNscher Flüssigkeit oder Kochsalz-Sublimatlösung fixiert. Sublimathaltige Flüssigkeiten dürften für den vorliegenden Zweck die geeignetsten Fixierungsflüssigkeiten sein. Gefärbt wurde hauptsächlich mit Eisenhämatoxylin. Zum Studium des Verhaltens der Nervenfasern fand die GOLGIsche Methode, sowie die vitale Methylenblaufärbung Anwendung. Zur Isolierung der Elemente der Regio olfactoria wurde 0·05prozentige Chromsäurelösung benutzt.

E. Schoebel (Neapel).

Pötzsch, O., Über die Entwicklung von Niere, Perikard und Herz bei Planorbis corneus (Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontogen., Bd. XX, 1904, p. 409—438 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.).

Der Laich wird im allgemeinen während des ganzen Sommers reichlich abgesetzt, und zwar an untergetauchten Pflanzenteilen und welken Blättern. Durch seine flach scheibenförmige Gestalt und rötliche Farbe ist er ohne weiteres von demjenigen von Limnaeus zu unterscheiden, der sich zumeist an der Unterseite der auf dem Wasser schwimmenden Blättern findet und durch eine mehr wurstförmige Gestalt und ein vollständig wasserhelles Aussehen charakterisiert ist. Vor der Fixierung, die Verf. hauptsächlich mit HERMANNscher oder ZENKERscher Flüssigkeit vornahm, wurde immer der Kokon geöffnet und das anhaftende Eiweiß vom Embryo mittels physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Die Orientierung der Objekte beim Mikrotomieren wurde nach der von HOFFMANN in dieser Zeitschrift Bd. XV, p. 317, beschriebenen Nelkenöl-Collodium-Methode vorgenommen. Als Orientierungsmarken und Anhaltspunkte zur Bestimmung des relativen

Alters der einzelnen Embryonen diente einmal die mehr oder weniger tiefe Einbuchtung zwischen Fuß und Eingeweidesack, und außerdem die Ausbildung der Radulatasche, die an dem aufgehellten Objekt immer sehr gut zu erkennen ist.

Die Färbung der Schnitte geschah fast ausschließlich nach der Heidenhainschen Eisenhämatoxylin-Methode. Nur für die ganz jungen Stadien ist einfache Färbung in Delafieldschem Hämatoxylin vorzuziehen, weil das Eisenhämatoxylin das Dotter vollständig schwärzt, wodurch die Deutlichkeit der Bilder stark beeinträchtigt wird. Für Totalpräparate erwies sich Alaunkarmin mit starker Differenzierung in Salzsäurealkohol als recht günstig. *E. Schoebel (Neapel).*

Fleischer, B., Beiträge zur Histologie der Tränendrüsen und zur Lehre von den Sekretgranula (Anat. Hefte, Heft 78 [Bd. XXVI, H. 1] 1904, p. 103—166 m. 6 Tfln.).

Es wurde die Tränendrüse des erwachsenen Rindes und des Kalbes benutzt. Gleich nach dem Schlachten wurde der knöcherne Orbitalrand ringsum losgeschlagen von dem Inhalte der Orbita und hierauf die Tränendrüse von hinten herauspräpariert. Dieselbe liegt oben außen hinter dem Orbitalrande und ist ein länglich ovales Organ von über Walnußgröße, ventralwärts abgeplattet. Kleine Stückchen wurden nach möglichster Entfernung der derben umhüllenden Fascien sofort in die verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten gebracht. Fixierung: Konzentrierte Sublimatlösung in 0·6prozentiger Kochsalzlösung, Alkohol 70 Prozent (täglich steigend), Mischung von konzentrierter Sublimat- und 2prozentiger Osmiumsäurelösung, 0·5prozentige Osmiumsäurelösung, Flemmingsche Lösung, konzentrierte wässerige Pikrinsäurelösung, Trichloressigsäure 10prozentige Lösung (die Präparate dürfen nicht in Wasser ausgewaschen werden, da sonst Quellung eintritt; die Übertragung geschieht direkt in 96prozentigen oder absoluten Alkohol). Nach 24- bis 48stündigem Aufenthalte in diesen Lösungen wurden die Präparate in steigendem Alkohol langsam entwässert (außer den Präparaten aus Trichloressigsäure). Einbettung in Paraffin nach der Schwefelkohlenstoffmethode von M. Heidenhain (absoluter Alkohol und Schwefelkohlenstoff zu gleichen Teilen, Schwefelkohlenstoff 1 und 2, konzentrierte Lösung von 45grädigem Paraffin und Schwefelkohlenstoff bei etwa 20°, konzentrierte Lösung von 55grädigem Paraffin bei etwa 40°, Paraffin 1 und 2). Die 3 bis 5 μ dicken Schnitte wurden mit Wasser auf dem Objektträger fixiert. Die Sublimatfixierung eignete sich gut zur Darstellung der Sekretkapillaren

und der Zentralkörper; auch die Trichloressigsäure war hierfür brauchbar. Die Alkoholfixierung führte starke Veränderungen des Zellprotoplasmas herbei, es wurden deshalb nur im Stück mit Chromhämatoxylin nach R. Heidenhain gefärbte Präparate zu bestimmten Zwecken benutzt. Die in Flemmingscher Lösung fixierten Stücke ließen sich mit den angewandten Farbstoffen sehr schlecht färben, so daß sie nicht benutzt wurden. Die in Osmium fixierten Präparate wurden in beschränktem Maße, besonders zur Darstellung der Sekretgranula benutzt. Eine besonders gute Erhaltung dieser Granula zeigte sich bei der Pikrinsäurefixierung der Kalbsdrüse. Auch die frische Drüse wurde untersucht, indem mit dem Rasiermesser möglichst dünne Schnitte abgetragen und unter dem Deckglase, eventuell nach leichtem Zerzupfen, mit oder ohne Zusatz von 0·7prozentiger Kochsalzlösung mit Ölimmersion untersucht wurden. Verf. hat auch die frische Drüse maceriert (nach Peiser): Einlegen von kleinen Stückchen für 12 bis 24 Stunden in konzentrierte Salzsäure, dann auswaschen und untersuchen in Wasser mit oder ohne Deckglas: Die einzelnen Tubuli beziehungsweise die Gruppen derselben werden isoliert und es läßt sich ihre Form durch Hin- und Herneigen des Objektträgers (ohne Deckglas) von verschiedenen Seiten beobachten. Die menschliche Tränendrüse wurde ebenso wie die tierische behandelt, unmittelbar nach der Hinrichtung in die Fixierungsflüssigkeit gebracht etc. Färbung: Zur Darstellung der Sekretkapillaren und Zentralkörper wurde die Eisenhämatoxylinmethode von M. Heidenhain verwendet. Zum Auffinden der Zentralkörper bewährte sich eine Nachfärbung mit Kongokorinth (konzentrierte alkoholische Lösung): leichte Rotfärbung des Protoplasmas und deutlicheres Hervortreten der um die Zentralkörper herum befindlichen hellen Zone. Ferner wurde zum Studium der allgemeinen histologischen Verhältnisse, insbesondere des ausführenden Systems eine Nachfärbung der mit Hämatoxylin (Delafield) gefärbten Schnitte mit Benzopurpurin 6 B angewandt (M. Heidenhain): Färbung mit konzentrierter alkoholischer Lösung, nachdem der Schnitt durch kurzes Verweilen in leicht alkalischem Alkohol alkalisch gemacht und dann sorgfältig wieder ausgewaschen war; Auswaschen des überflüssigen Farbstoffes in Alkohol. Zur Darstellung der Sekretgranula hat Verf. außer der Eisenhämatoxylinfärbung eine kombinierte Anilinfärbung benutzt (beschrieben von Heidenhain in dieser Zeitschrift Bd. XX, 1903, p. 179), nachdem Versuche mit Safranin, Lichtgrün, Lichtgrün-Safranin, Methylenblau, Thiazinrot keine befriedigenden Resultate ergeben hatten, nämlich eine Kombination von Brillantschwarz, Toluidin-

blau und Safranin: Die Schnitte kamen in eine einprozentige wässerige Lösung von Brillantschwarz 3B für wenige Minuten (Schnitte bläulich schwarz), dann für wenige Minuten in eine gleich starke Lösung von Toluidinblau (Schnitte stark dunkelblau), dann Differenzierung in einer 0·5prozentigen alkoholischen Safraninlösung (nicht zuviel!), endlich Entfernung des überschüssigen Safranins mit Alkohol. Diese Färbung wurde besonders angewandt bei Präparaten nach Fixierung in Sublimat, Trichloressigsäure und Pikrinsäure. Zur Darstellung der Membrana propria der Tubuli wurde nach Vorfärbung mit Carmalaun eine einprozentige wässerige Lösung von Blauschwarz B benutzt, wodurch dieselbe als scharfe blaue Linie hervortritt. — Zu besonderen Zwecken wurde auch die Submaxillaris und Parotis des Rindes, sowie diese und die Tränendrüse des Kaninchens untersucht. *Schiefferdecker (Bonn).*

Porcile, V., Untersuchungen über die Herkunft der Plasmazellen in der Leber (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 2, p. 375—399 m. 1 Tfl.).

Verf. hat durch Einspritzen von Terpentinöl in die Kaninchenleber Gewebsteile zum Absterben gebracht und dann den Heilungsprozeß genauer untersucht, Terpentinöl wird von den Tieren besser vertragen als Karbol und bringt eine gleichmäßigere Wirkung hervor, als organische Extrakte oder Nukleoproteïne. Nach der Einspritzung wurde das Tier noch 30 Stunden, 56 Stunden, 4 Tage, 7 Tage und 10 Tage am Leben gelassen. Fixiert wurde mit Alkohol, Sublimat, Zenkerscher Flüssigkeit, Müller-Formol, seltener mit Flemmingscher Lösung. Gefärbt wurde mit Methylenblau (gewöhnlichem oder polychromem nach Unna), Methylgrünpyronin nach Pappenheim, Hämatoxylin-Eosin, Safranin und der Methode von van Gieson. Die Färbung mit Metylpyronin lieferte sehr schöne, charakteristische Bilder. *Schiefferdecker (Bonn).*

Tiberti, N., Über die Sekretionserscheinungen in den Nebennieren der Amphibien (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 2, p. 161—183 m. 1 Tfl.).

Verf. hat bei den vorliegenden Untersuchungen die Absicht gehabt, vom histologischen Gesichtspunkte aus das Verhalten der Nebennieren nach der Injektion gewisser Substanzen zu studieren, von

denen einige imstande sind, die Sekretion in den wahren und eigentlichen Drüsenorganen zu befördern, andere als technische Produkte des Stoffwechsels betrachtet werden müssen. Unter den Substanzen der ersten Art wählte Verf. das Pilocarpin und das Nikotin, von denen der zweiten das Xanthin, das Leucin, das Kreatin und die Taurocholsäure. Die Nebennieren von Kaninchen, Meerschweinchen und Hunden erwiesen sich bald als ungünstig für diese Untersuchung, Verf. wählte daher die Amphibien (besonders Bufo vulgaris und Rana temporaria). Die Injektionen wurden stets unter die Haut des Abdomens gemacht. Gleich nach Tötung des Tieres wurde die Bauchhöhle eröffnet, die Nieren wurden herausgenommen und die Nebennieren ausgeschnitten; an letzteren blieb infolge ihrer innigen Beziehung zu den Nieren immer ein Stück Nierenparenchym hängen, wodurch es möglich wurde, vergleichsweise zu untersuchen, wie sich die Granularsekretion in den Nierenepithelien und in den Nebennieren verhielt. Die Organstücke wurden fixiert in FLEMMINGscher, HERMANNscher, ZENKERscher Flüssigkeit, sowie in gesättigter Sublimatlösung. Gefärbt wurde vorzugsweise mit der Methode von GALEOTTI in folgender Weise: Fixierung in FLEMMINGscher oder HERMANNscher Flüssigkeit. Einschluß in Paraffin. Färbung der sehr feinen, am Deckglase befestigten Schnitte unter Erwärmung mit einer gesättigten Fuchsinlösung in Anilinwasser. Reichliches Auswaschen in fließendem Wasser. Die Schnitte kommen in eine gesättigte hydroalkoholische Lösung von Pikrinsäure, wodurch das Cytoplasma der Zellelemente entfärbt wird. Waschen in fließendem Wasser. Einige Minuten lang Färbung, ohne zu erwärmen, in einer 0·5prozentigen alkoholischen Lösung von Methylengrün. Auswaschen in destilliertem Wasser. Schnelles Entwässern durch absoluten Alkohol, Xylol, Balsam. Die Körnchen und Kerne färben sich rot, das Cytoplasma grün. Außerdem wurden auch einfache Färbungen mit Safranin, Hämatoxylin, Eosin etc. verwendet. *Schiefferdecker (Bonn).*

Tiberti, N., Mikroskopische Untersuchungen über die Sekretion des Pankreas bei entmilzten Tieren (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 2, p. 184—191 m. 1 Tfl.).

Die Versuche wurden an Hunden ausgeführt. Die Operation wurde sehr gut vertragen. Die Tiere wurden gewöhnlich 3½ Stunden nach Nahrungsaufnahme getötet, da dies der geeignete Zeitpunkt war, um die Alveolarzellen im Maximum ihrer sezernierenden Tätig-

keit anzutreffen. Wäre die Beobachtung später vorgenommen worden, so hätte man die Zellen arm an Körnchen angetroffen, da letztere sich in die Ausscheidungswege ergossen haben würden. Nach Tötung des Tieres wurden kleine Pankreasstücke herausgenommen und in FLEMMINGscher, HERMANNscher Flüssigkeit, sowie in gesättigter Sublimatlösung fixiert. Zur Färbung wurde fast ausschließlich die Methode von GALEOTTI benutzt (siehe das vorstehende Referat). Das Protoplasma der Zellen färbt sich grün, die Körnchen, der Nucleus und die Nucleoli färben sich rot. *Schiefferdecker (Bonn).*

Lams, H., Contribution à l'Étude de la Génèse du vitellus dans l'Ovule des Téléostéens (Arch. d'anat. microsc. t. VI, 1904, fasc. 4, pp. 633—652 av. 2 plches.).

Untersucht wurden die Eier des Stints (Osmerus eperlanus). Verschiedene Stücke des Ovariums wurden fixiert in FLEMMINGscher, HERMANNscher, BOUINscher Flüssigkeit, Sublimat-Essigsäure, absolutem Alkohol. Die besten Resultate ergab die FLEMMINGsche Flüssigkeit, Einbettung in Paraffin. Die mit dem MINOTschen Mikrotom gemachten Schnitte wurden mit Safranin in Verbindung mit Lichtgrün und Gentianaviolett gefärbt. Sublimat-Essigsäure mit darauffolgender Färbung durch Eisenhämatoxylin von HEIDENHAIN ließ die Chromatinteile des Kernes und des Dotters hervortreten.

Schiefferdecker (Bonn).

C. Botanisches.[1]

Beck von Managetta, G., Über die Verwendung der Persio-Essigsäure zu mikroskopischen Tinktionen (Sitzungsber. d. Deutsch. naturwiss.-mediz. Vereins f. Böhmen „Lotos“ 1904, No. 7).

Als neuen empfehlenswerten, vielseitig verwendbaren Farbstoff nennt Verf. Persio.

„Persio, roter Indigo oder Cudbear, ist ein der Orseille nach

---

[1]) Referate über bakteriologische und mineralogische Arbeiten im nächsten Heft. K.

Herkunft und Zusammensetzung ganz ähnliches Produkt und stellt ein purpurrotes bis violettes Pulver mit laugenhaftem Geschmack und etwas urinösem Geruche dar. Es entstammt den Orseille-Flechten und wird in mehreren Farbenabstufungen in den Handel gebracht. Persio ist im Wasser sowie in Essigsäure leicht löslich, wenig oder gar nicht im Alkohol.“

Besonders empfehlenswert ist die Anwendung des Farbstoffs in Form der Persio-Essigsäure; eine konzentrierte Lösung färbt schnell und kräftig in 1 bis 2 Minuten. Man färbt in einem Tropfen der Farbstofflösung auf dem Objektträger. Bei Anwendung einer verdünnten Lösung, die man einige Stunden lang einwirken lassen muß, fällt die Färbung noch schöner aus. — Die gefärbten Schnitte können in Glyzerin, gesättigte Lösung von Kaliumazetat und venezianischen Terpentin übertragen werden, die alle die ursprüngliche Färbung verändern — aber in vorteilhaftem Sinne. „In Glyzerin bleibt die braun-purpurfarbige Tinktion der Chloro- und Leukoplasten erhalten. Die Zellkerne speichern gewissermaßen den Farbstoff auf und werden dunkelpurpurn, die Chromatinsubstanz derselben erscheint sehr deutlich: hingegen wird die Zellmembran nur schwach gefärbt. — In venezianischem Terpentin werden die Zellwände etwas rötlichviolett, alle plasmatischen Teile violett, die Kerne noch dunkler gefärbt. — In Kaliazetat wird die Farbe der Tinktion in ein schönes Blauviolett umgewandelt. Überraschenderweise erlangt die Färbung mit der Zeit immer tiefere Töne: die Kerne werden fast schwarz und dadurch ungemein auffällig. Aber auch das lästige Aufquellen der Zellkerne, welches dieser Einbettungsflüssigkeit anhaftet — was z. B. die so schönen Methylgrünessigsäure-Tinktionen schädigt — wird vermieden. Läßt man Persio-Essigsäure kräftiger resp. länger einwirken, so erhält man schön differenzierte Färbungen der Gewebe. Bast- und Sklerenchymzellen werden prächtig rotviolett und die Kutikula gelb. Gewöhnliche Zellulosemembranen bleiben hell.“ —

Persio-Essigsäure läßt sich mit anderen Farbstoffen kombinieren. Verf. erprobte folgende Mischungen:

Persio-Essigsäure-Kernschwarz und Persio-Essigsäure-Nigrosin: Einbettung in Glyzerin; schwarzviolette, dauerhafte Färbung. Zellwände, auch Collenchym gefärbt.

Persio-Essigsäure-Methylgrünessigsäure: warm rotbraune Töne. In Glyzerin starke Färbung der Membranen, Sklerenchym und Collenchym fleischrot; ähnliche Färbungen bei Einbetten in Terpentin.

Persio-Essigsäure-Gentianaviolett (verdünnte Lösung): Einbetten in Terpentin. Zellwände blauviolett, Zellkerne und plasmatische Substanz schön rotbraun. —

Persio-Essigsäure färbt plasmatische Substanz, auch die Chromatophoren rasch und dauerhaft; besonders wertvoll macht den Farbstoff die Haltbarkeit der Färbungen in Glyzerin. Auch andere Organismen — Schizophyceae, Bacillariaceae, Conjugaten etc. — färben sich gut. Verf. macht auf die gute Färbung der Pyrenoïde und Chloroplasten bei Konjugaten durch Persio-Essigsäure aufmerksam. Bei Rot- und Braunalgen färben sich Kern und Chromatophoren gut, bei Pilzen nur die plasmatischen Teile. Die Chloroplasten der Moose färben sich erst bei längererer Einwirkungsdauer.

Küster (*Halle a. S.*).

Phillips, D. P. A., Comparative Study of the Cytology and Movements of the Cyanophyceae (Transact. a. Proceed. Botan. Soc. Pennsylvania vol. I, 1904, no. 3, p. 237—335).

Die zu studierenden Algen waren sowohl unter günstigen natürlichen Bedingungen als in Nährlösungen mit Zusatz oder Weglassung verschiedener Stoffe kultiviert. Gefärbt wurde in vivo durch Methylenblau oder nach Fixierung. Zum Fixieren wurden folgende Lösungen verwandt: Chromsäure von verschiedenen Konzentrationen, Chromessigsäure, Sublimat (heiße wie kalte Lösung), alkoholische und wässerige Lösungen von Pikrinsäure, Pikrinschwefelsäure, Osmiumsäure, Flemmingsches Gemisch (konzentriert und verdünnt), Hermannsche Lösung, Essigsäure von verschiedenen Konzentrationen, Formalin, Alkohol, Formalin und Alkohol, und kochende Wasser. Bei Prüfung aller einzelnen Fragen benutzte Verf. Material, das mit allen genannten Mitteln fixiert worden war, sowie lebendiges Material. Entweder sogleich nach dem Fixieren und Auswaschen oder erst nach allmählichem Entwässern wurde gefärbt.

Am besten geeignet zeigten sich folgende Färbemittel: Heidenhainsches Eisenalaun- und Delafieldsches Hämatoxylin. Benutzt wurden ferner saures Hämatoxylin, Safranin, Eosin, Erythrosin, Methylgrün, Methylenblau (intra vitam), Methylviolett, Gentianaviolett, Pikrokarmin, Borkarmin und Karbolfuchsin. Gebeizt wurde nach bakteriologischen Methoden. Die gefärbten Fäden wurden in 10prozentiges Glyzerin eingelegt und dem Verdunsten ausgesetzt. Nach Eindicken des Glyzerins wurde Glyzeringelatine zugesetzt.

Die gallertigen äußeren Schichten der Zellwände von Nostoc, Oscillaria etc. wurden nach vorherigem Beizen durch Eisessig, Karbolfuchsin, Methylenblau oder saures Hämatoxylin gefärbt.

Im Kern (Zentralkörper) finden sich Körner, die Kernfärbemitteln gegenüber wie Chromatinbläschen reagieren. Nach Verdauung der Zelle in künstlichem Magensaft bleibt Kern samt Chromatinbläschen unzerstört.

Die im Cytoplasma liegenden Cyanophycinkörner werden durch Delafieldsches Hämatoxylin schwach gefärbt, durch 4prozentige Salzsäure oder einprozentige Schwefelsäure oder Chloralhydrat gelöst. Die „Schleimkugeln" stellen Kohlehydrate dar, die 6prozentiger Kalilauge gegenüber wie Paramylum reagieren. — Das Vorhandensein von Glykogen läßt sich mikrochemisch nachweisen. — Bei Verwendung der oben erwähnten Farbstoffe war eine Art Kernteilung, die sich mit Karyokinese vergleichen ließ, zu beobachten.

Durch Plasmolyse nach der Gardinerschen Methode mit Jod und Schwefelsäure bewies Verf., daß die cilienähnlichen Körper, die man für anhängende Bakterien gehalten hat, wirklich Cilien sind. An den Endzellen der Fäden sind sie lang, an den anderen Zellen kurz. Die letzteren lassen sich nicht gleich durch Färben nachweisen, da der Zusatz von Beizen oder auch von Wasser die Cilien gegen die Wand drückt. Wenn man aber mit Protoplasmafärbemitteln ohne nachheriges Waschen färbt, so sind die 0·5 μ langen Cilien gut zu sehen. *Ernst A. Bessey (Washington).*

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Clausen, Grundriß der Trichinenschau. Leitfaden für den Unterricht in der Ausbildung der Trichinenschauer nebst den preußischen gesetzlichen Bestimmungen. Berlin (R. Schoetz) 1905. 55 pp. 1·— M.

Heine, P., Hilfsbuch für Fleischbeschauer. Hannover (M. u. H. Schaper) 1905. 108 pp. geb. 2·75 M.

Heine, P., Leitfaden der Trichinenschau. Hannover (M. u. H. Schaper) 1905. 47 pp. geb. 1·50 M.

Joseph, M., Dermato-histologische Technik, 3. Aufl. Berlin (Louis Markussche Verlagsbuchhandlung) 1905.

Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefenreinkultur und Infektionslehre. 4., neu bearb. Aufl., 237 Abb., 4 Tfln., 521 pp. Berlin (Paul Parey) 1905. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 135.) 19 M.

Lynch, R., Mikroskopische Untersuchung der Fäces. Ihre Bedeutung und ihre Anwendung in der ärztlichen Praxis. 8°. Leipzig (G. Thieme) 1904. 35 pp. 1·20 M.

Schmorl, G., Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. 3., neu bearbeit. Aufl. Leipzig (F. C. W. Vogel) 1905. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 134.) 8·75 M.

Winslow, Ch.-E. A., Elements of applied Microscopy. A text-book for beginners. First edit. New York (John Wiley & Sons) 1905. 183 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 135.)

Anleitung, kurze, zur Herstellung mikroskopischer Präparate (Fixierungs-, Härtungs-, Einbettungs- und Färbungsmethoden). Würzburg (Mönnich) 1905. 8°. —·80 M.

2. Mikroskop und mikroskopische Apparate.

a. Neue Mikroskope.

(**Chabrié, M. C.,**) Construction-principle of an optical apparatus for obtaining very large magnifications [The Diastoloscope] (C. R. Acad. Sc. Paris t. CXXXVIII, 1904, p. 265; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 108).

KORISTKA's large Model microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 101; vgl. F. KORISTKA's special Catalogue; Milan Nov. 1904).

b. Objective.

Chalmers, S. D., The theory of symmetrical optical objectives. Part II (Roy. Soc. London, Jan. 26., 1905).

H., Construction of aplanatic combinations of lenses with or without achromatism (English Mechanic vol. LXXX, 1904, p. 252).

(**Keeley, F. J.,**) Spencer Objective (Journ. R. Microsc Soc. 1905, pt. 1, p. 103; vgl. Proc. Acad. Nat. Sci., Philadelphia vol. LVI, 1904, p. 475).

c. Okular.

Merlin, A. A. C., Microscopical high powers and deep eye-pieces (English Mechanic vol. LXXX, 1904, p. 455; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 103).

d. Lupen.

Das Mikrophotoskop [Generalstabskartenlupe] (Kriegstechnische Zeitschr. 1905, H. 1).

e. Ultramikroskop.

(**Biltz, W.**,) Ultramicroscopic observations on the decomposition of Sulphur from Thiosulphuric acid and of Selenium from Selenic acid (Nachr. d. kgl. Ges. d. Wiss. Göttingen 1904, p. 300; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 107).

(**Maxwell, J. C.**,) Colours in metal glasses and in metallic films (Proc. Roy. Soc. vol. LXXIII, 1904, p. 443; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 107).

Michaelis, L., Ultramikroskopische Untersuchungen (Virchows Arch. f. pathol. Anat. Bd. CLXXIX [Folge 17, Bd. IX], 1905, H. 2, p. 195—200).

3. Mikrophotographie und Projektion.

(**Chapman Jones,**) Three-colour photography (Knowledge vol. I, 1904, p. 285; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 104).

Edelmann, M., Universal-Vorlesungs-Projektionslampe (Phys. Zeitschr. Bd. VI, 1905, p. 78).

(**Köhler, A.**,) Photomicrography with the aid of ultra-violet light (Engineering vol. LXXVIII, 1904, p. 760; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 103).

Simon et Spillmann, L., Application de la photographie à la numération des éléments figurés du sang (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LVII, 1904, no. 37, p. 659—660).

(**Thompson, J.**,) Photomicrography and Photomicrometry (Proc. Scot. Micr. Soc. vol. IV, 1903, p. 44; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 106).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

(**Collins, J. R.**,) Hanging-drop preparations (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 117; vgl. Brit. Med. Journ. vol. II, 1904, p. 1635).

Darwin, H., Electric thermostat (Phil. Mag. vol. VII, 1904, p. 408).

Dreuw, Exstirpations- und Operationsfeder (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XXXIX, 1904, p. 208—210 m. 1 Fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 137).

Goppelsroeder, Fr., Studien über die Anwendung der Kapillaranalyse bei vitalen Tinktionsversuchen (Verh. d. Naturf. Gesellsch. Basel Bd. XVII, 1904, p. 157—198 m. 23 Tfln.).

Groot, J. G. de, Ein neuer Kitt zum Schließen von Gefäßen mit Alkoholpräparaten, auch für den Versand (Zool. Anz. Bd. XXVIII, 1904, p. 406—407; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 136).

Hesketh Walker, Notes on Marine alpharia (English Mechanic vol. LXXX, 1904, p. 324).

(**Horder, E.**,) All-metal cover-glass holder (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 117; vgl. Brit. Med. Journ. vol. II, 1904, p. 759).

Lugaro, E., Sulla tecnica del metodo di Nissl (Monit. Zool. Ital., Anno 16, no. 1, p. 11—16).

Marrassini, A., Nota di tecnica microscopica (Rendic. Accad. med. Pisa, 24 febbr. 1904; Giorn. Ital. Sc. med., Anno 2, 1904, no. 5, p. 66).

Mulon, P., Action de l'acide osmique sur les graisses (Bibliogr. anat. t. XIII, 1904, fasc. 4, p. 208—213; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 138).

Nabias, B. de, Nouvelle méthode de coloration rapide du système nerveux au chlorure d'or (Bibliogr. anat. t. XIII, 1904, fasc. 4, p. 221—222; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 139).

Prytz, K., Optisk kontakt mellem et mikroskop og en spejlende flade. I. Tilvejebringelse af kontakten (Overs. Vidensk. Selsk. Forh. Kopenhagen 1905, p. 17).

Skrobansky, Eine Methode der nachträglichen Färbung mit Bleu de Lyon und Pikrinsäure (Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXI, 1904, H. 1—3, p. 21—22; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1905, p. 138).

New imbedding bath (Cambridge Scientific Instrument Company, Special Catalogue 1904; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1904, pt. 1, p. 114).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Fernandez, M., Zur mikroskopischen Anatomie des Blutgefäßsystems der Tunikaten. Nebst Bemerkungen zur Phylogenese des Blutgefäßsystems im allgemeinen (Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XXXIX, 1904, p. 323—422 m. 12 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 142).

Floyd, R., A contribution to the nervous cytology of Periplaneta orientalis, the common cockroach (Mark Anniversary Volume New York 1903, Art. XVII, p. 341—357 w. 3 pl., Ref. n. Ref. in Journ. Compar.

Neurol. and Psychol. vol. XIV, 1904, no. 3, p. 287—288; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 143).

Gadzikiewicz, W., Über den feineren Bau des Herzens bei Malakostraken (Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XXXIX, 1904, p. 203—234 m. 6 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 141).

Heath, H., The Nervous System and Subradular Organ in two Genera of Solenogastres (Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontogen., Bd. XX, 1904, p. 399—408 w. 1 plt.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 144).

Hoffendahl, K., Beitrag zur Entwicklungsgeschichte und Anatomie von Poecilasma aurantium Darwin (Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontogen. Bd. XX, 1904, p. 363—398 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 144).

Lésage, Culture de l'amibe de la dysenterie des pays chauds (C. R. Ac. Sc. t. CXXXIX, p. 1237—1239; Ann. de l'Inst. Pasteur t. XIX, 1905, no. 1, p. 9—16 av. 1 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 140).

Sala, Luigi, Intorno ad una particolarità di struttura delle cellule epiteliali che tappezzano il tubo ovarico e spermatico degli Ascaridi (Arch. Sc. med. vol. XXVIII, 1904, fasc. 3, p. 301—317 c. 1 Tfl.).

Thiroux, Recherches morphologiques et expérimentales sur Trypanosoma paddae (Ann. de l'Inst. Pasteur t. XIX, 1905, no. 2, p. 65—83 av. 1 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 140).

b. Wirbeltiere.

Ballowitz, E., Die Riechzellen des Flußneunauges [Petromyzon fluviatilis] (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1904, p. 78—95 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 160).

Borchert, M., Über Markscheidenfärbung bei niederen Wirbeltieren (Verh. d. Berliner Physiol. Ges. Sitz. 6. Mai 1904; vgl. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt., 1904, H. 5, 6, p. 572—575; diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 153).

Bosellini, B. L., Plasma cellule ed apparato linfoemopojetico (Giorn. Ital. Malattie veneree e pelle vol. XLV, 1904, Anno 39, fasc. 5, p. 521—565 c. 1 tav.).

Cajal, S. R., Das Neurofibrillennetz der Retina (Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXI, 1904, H. 4—8, p. 369—396 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 155).

Ferrai, Carlo, Sulla diagnosi specifica del sangue col metodo biologico in medicina legale. 3. Nota: Azione della putrefazione sulla reazione col metodo biologico (Bull. Accad. med. Genova, Anno 19, 1904, no. 3, p. 191—204).

Fleischer, B., Beiträge zur Histologie der Tränendrüsen und zur Lehre von den Sekretgranula (Anat. Hefte, H. 78 [Bd. XXVI, H. 1], 1904, p. 103—166 m. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1904, p. 162).

Galli, G., Ein verbesserter Mischer zur Zählung der Blutkörperchen (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. LI, 1904, No. 13, p. 561 m. 1 Fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 148).

Hardesty, I., On the Development and Nature of the Neuroglia (Amer. Journ. Anat. vol. III, 1904, no. 3, p. 229—268 w. 5 pltes.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 157).

Helber, E., Über die Zählung der Blutplättchen im Blute des Menschen und ihr Verhalten bei pathologischen Zuständen (Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI, 1904, H. 3, 4, p. 316—327; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 150).

Jolly, J., Recherches expérimentales sur la Division indirecte des Globules rouges (Arch. d'anat. Microsc. t. VI, 1904, fasc. 4, p. 455—632 av. 4 plches.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 148).

Kamon, K., Über die Geruchsknospen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXIV, 1904, p. 653—664 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 161).

Keinath, K. Th., Über den mikroskopischen Nachweis von Fett in normalen Muskeln (Inaug. Dissertation Tübingen 1904, 32 pp.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 145).

Lams, H., Contribution à l'Étude de la Génèse du vitellus dans l'Ovule des Téléostéens (Arch. d'anat. microsc. t. VI, 1904, fasc. 4, p. 633—652 av. 2 plches.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 166).

Meves, Fr., Über die Wirkung gefärbter Jodsäure auf die roten Blutkörperchen der Amphibien (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 4, 5, p. 97—103 m. 4 Figg.).

Meyburg, H., Beitrag zur Kenntnis des Stadiums der „primären in toto konzentrischen" Knochenbildung (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXIV, 1904, p. 627—652 m. 8 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 153).

Modica, Orazio, Nuovo metodo di fissazione del sangue (Arch. Farmacol. sperim. e Sc. affini, Anno 3, vol. III, 1904, fasc. 11, 5 pp.).

Moll, Alfr., Zur Darstellung der Neuroglia und der Achsenzylinder im Sehnerven (Beitr. z. Augenheilk., Festschr. Jul. Hirschberg überr., Leipzig 1905, p. 195—198 m. 1 Tfl.).

Pardi, F., Eritrociti nucleati (eritroblasti) ed anucleati, leucoblasti e cellule giganti (megacariociti) nel grande epiploon del coniglio (Rendic. Accad. med. Pisa, 5 febbr. 1904: Giorn. Ital. Sc. med., Anno 2, 1904, no. 4, p. 56—57).

Pensa, Antonio, Della esistenza di fibre nervose aventi speciali rapporti coll'ependima (Boll. Soc. med.-chir. Pavia, 1904, no. 3, p. 156—160 c. 1 tav.).

Pinkus, F., Über Hautsinnesorgane neben dem menschlichen Haar (Haarscheiben) und ihre vergleichend-anatomische Bedeutung (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1904, p. 78—95 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 160).

Pötzsch, O., Über die Entwicklung von Niere, Perikard und Herz bei Planorbis corneus (Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontogen. Bd. XX, 1904, p. 409—438 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 161).

Porcile, V., Untersuchungen über die Herkunft der Plasmazellen in der Leber (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 2, p. 375—399 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 164).

Raehlmann, E., Ultramikroskopische Untersuchungen von Blut- und Sekretbestandteilen (Wiener med. Wochenschr., Jahrg. LV, 1905, No. 1, p. 30—37 m. 7 Figg.).

Rubaschkin, W., Studien über Neuroglia (Arch. f. mikrosk. Ant. Bd. LXIV, 1904, p. 575—626 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 158).

Tarugi, N., Di alcune incertezze sull'esame di macchie sanguigne e sulla probabile costituzione chimica del sangue (Giorn. Ital. Sc. med., Anno 2, 1904, No. 12, p. 183—185).

Tiberti, N., Mikroskopische Untersuchungen über die Sekretion des Pankreas bei entmilzten Tieren (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 2, p. 184—191 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 165).

Tiberti, N., Über die Sekretionserscheinungen in den Nebennieren der Amphibien (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 2, p. 161—183 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 164).

Torday, Arpád v., Die basophilen Körnchen der roten Blutkörperchen (Pester med.-chir. Presse, Jahrg. XLI, No. 8, p. 173—176).

Weidenreich, F., Studien über das Blut und die blutbildenden und -zerstörenden Organe. 2. Bau und morphologische Stellung der Blutlymphdrüsen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1904, p. 1—77 m. 6 Figg. u. 5 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 146).

Weidenreich, F., Über die Form der Säugererythrocyten und die formbestimmenden Ursachen (Folia haematol., Jahrg. II, No. 2, p. 95—104).

Ziegler, K., Histologische Untersuchungen über das Ödem der Haut und des Unterhautzellgewebes (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 3, p. 435—505 m. 8 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 145).

Ein Beitrag zur Paraffinschneidetechnik.

Von

Dr. Anton Siding,

städt. Arzt im Versorgungsheim der Stadt Wien, gewes. Assistent am I. anat. Institut in Wien.

Ein gewiß oft empfundener Übelstand bei der Herstellung von Paraffinschnitten ist der, daß infolge des Wechsels der äußeren Temperatur auch die Konsistenz und infolgedessen die Schnittfähigkeit des Paraffinblockes sich ändert. Dieselbe Paraffinmischung, die z. B. morgens gute und glatte Schnitte liefert, erweist sich mittags als zu weich; die Schnitte falten sich, kleben am Messer oder es ist das Umgekehrte der Fall, die Schnitte rollen sich oder bröckeln gar. Wenn man, wie es Rawitz[1] mit Recht empfiehlt, nur hartes Paraffin mit einem Schmelzpunkt von 56 bis 58° C. benützt, so hat man zwar den Vorteil, möglichst dünne Schnitte zu erzielen, aber die Unannehmlichkeit des Rollens und Bröckelns der Schnitte ist natürlich in erhöhtem Maße vorhanden.

Bei Anwendung des im folgenden zu beschreibenden Kunstgriffes, der mir oft aus der Verlegenheit geholfen hat, gelang es mir oft, schöne glatte Schnitte zu erhalten, wenn die bekannten Mittel gegen das Rollen und Bröckeln der Schnitte — Schnittstrecker, Erwärmen des Messers etc. — mich im Stiche ließen.

Ich presse mir mit den Fingern ein Stückchen Zugparaffin zu einer dünnen, durchscheinenden Platte von der Größe der Schnittfläche zurecht und drücke dieselbe auf die Schnittfläche des Paraffinblockes auf. Einige Übung lehrt es bald, den richtigen Druck zur Erzielung einer innigen Adhäsion zu finden.

[1]) Leitfaden für histologische Untersuchungen.

Blöcke aus hartem Paraffin oder nicht zu weichen Paraffinmischungen halten diesen Druck ganz gut aus ohne Schaden zu leiden. Wenn die Platte gut aufgedrückt ist, so bleibt nach dem Durchziehen des Messers der Paraffinschnitt glatt auf der Unterfläche der aufgelegten Paraffinplatte kleben und man kann nun letztere samt dem Schnitt mit dem Finger auf den mit der Aufklebeflüssigkeit bestrichenen Objektträger drücken. Es entfällt somit das zeitraubende und unsichere Glätten des Schnittes mit der Staarnadel.

Die vorzügliche Methode von Gaule und Altmann, bei welcher die Schnitte ohne Aufklebemittel, bloß durch Kapillar-Attraktion am Objektträger haften, ist hier allerdings nicht anwendbar. Die weitere Behandlung des Schnittes ist die sonst bei Paraffinschnitten gebräuchliche.

Man erzielt bei einiger Übung sehr hübsche Resultate, man kann sehr dünne und zugleich große Schnitte mit wenig Mühe anfertigen. Besonders bei der Anfertigung von histologischen Präparaten, die als Übersichtsbilder dienen, leistet diese Methode sehr gute Dienste. Bei sehr großen Objekten kann man auch, um einen innigeren Kontakt der Paraffinplatte mit der Schnittfläche zu erzielen, folgendermaßen verfahren: Man erhitzt auf dem Spatel etwas weiches Paraffin bis auf seinen Schmelzpunkt — eine zu starke Erwärmung ist nicht zulässig — und gießt dann das geschmolzene Paraffin auf die Schnittfläche auf.

Eine ähnliche Methode wandte Professor Hochstetter an, indem er ein Stückchen Seidenpapier fest auf die Schnittfläche andrückte. Böhm und Oppel[1] empfehlen zur Herstellung dünnerer Schnitte die Schnittfläche des Celloïdin- oder Paraffinblockes mit einer dünnen Kollodiumschicht zu bestreichen, dieselbe erstarren zu lassen und dann zu schneiden. Bei Celloïdin führt jedoch diese Methode nie zum Ziele, da an dem feuchten Celloïdinblock das Kollodium einfach nicht haftet; bei Paraffin ist sie wohl anwendbar, doch falten sich immer die Schnitte infolge der ungleichmäßigen Zusammenziehung des Celloïdinhäutchens, so daß es ganz unmöglich ist, den Schnitt glatt auf den Objektträger zu bringen.

[1]) Taschenbuch der mikrosk. Technik, S. 36.

[Eingegangen am 15. April 1905.]

[Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie der Kaiserl. St. Wladimir-Universität zu Kiew. Direktor: Prof. W. Lindemann.]

Zur Technik der Injektion feiner Gefäße.

Von

P. Konaschko

in Kiew.

Beim Injizieren von einzelnen Organen kleiner Tiere ist es bisweilen erforderlich, Kanülen in sehr feine Gefäße einzuführen. So erweist es sich z. B. beim Injizieren des Pfortadersystems der Froschniere als am zweckmäßigsten, die Kanüle in die v. portae renis selbst einzuführen, wenngleich diese Prozedur bedeutende Schwierigkeiten bietet. Man könnte ja freilich die Kanüle in die v. abdom. anter. einbinden und von dieser aus injizieren. Doch ergäbe sich dann erstens keine so vollkommene Injektion, weil ein beträchtlicher Teil des Druckes auf die Injektion auch der übrigen Äste der v. abdom. anter. käme, und zweitens vermöchten wir nicht, eine genügend deutlich gegen kollaterale Rahmen und Anastomosen abgegrenzte Injektion zu erhalten.

Die Einführung einer Kanüle in ein feines Gefäß (als „Finder“ dient gewöhnlich die feine Branche einer gebogenen Pinzette, wie sie beim Anfertigen von mikroskopischen Präparaten gebraucht wird) ist überaus schwierig und gelingt bei Anwendung der allgemein üblichen Methode nicht immer. Das Haupthindernis besteht nicht in der absoluten Enge des Gefäßlumens, sondern im Zusammenfallen des letzteren nach dem Auswaschen des Gefäßes mit physiologischer Kochsalzlösung zwecks Entfernung des Blutes. Im Zustande der Ausdehnung vermag nun aber ein sogar äußerst enges Gefäß eine entsprechend feine Kanüle durchzulassen. Auf Grund der erwähnten Tatsachen wende ich mit Erfolg folgendes Verfahren an, bei welchem zwei Kanülen zur Verwendung gelangen. Dasselbe zerfällt in zwei Prozesse:

a) Die erste — die Hilfskanüle — wird gewöhnlich in das größte der mit dem zu injizierenden Gebiete im Zusammenhang

stehenden Gefäße eingeführt; so wird z. B. beim Injizieren des Pfortadersystems der Niere die Hilfskanüle etwa in die v. cava inferior, oder die v. abdom. anter. eingeführt. Durch diese Kanüle injizieren wir das betreffende Gebiet möglichst vollständig mit einer warmen farblosen Gelatinelösung von nicht allzu starker Konzentration. Hierbei ist natürlich das ganze Präparat in ein warmes Wasserbad zu bringen. Nach möglichst vollkommener Injektion wird das Präparat dem Bade entnommen und kalt gestellt. Die im Innern der Gefäße erstarrende Gelatine erhält dieselben nun im Zustande der Ausdehnung.

b) Es gelingt nun ziemlich leicht eine entsprechend feine Kanüle in das auf solche Weise dilatierte Gefäß einzuführen. War die Gelatinelösung nicht allzu konzentriert, so leistet die im Innern des Gefäßes erstarrte Gelatinesäule der Einführung der Kanüle nur geringen Widerstand. Nach Befestigung der Kanüle wird das ganze Präparat von neuem in warmes Wasser gebracht, nach Verlauf von einigen Minuten die nun wieder flüssig gewordene Gelatine zum Ausfließen gebracht und alsdann die eigentliche Injektionsmasse eingespritzt.

Mit Hilfe dieser Methode ist es mir gelungen, Kanülen sogar in eine der vv. renis advehens secundariae zu bringen, die ungefähr zweimal so dünn ist, als die v. renis advehens princeps (= v. portae renis). Die Kanülen, die von mir in die erstgenannte Vene eingeführt wurden, stellen dünne, zu äußerst feinen Kapillaren ausgezogene Glasröhrchen dar, welche die unter hohem Drucke stehende Flüssigkeit nicht in einem Strahle, sondern tropfenweise heraustreten lassen. Zur Glättung der Ränder einer solchen Kanüle genügt schon eine schwache Flamme.

[Eingegangen am 5. April 1905.]

Objektträgergestell zur Massenfärbung von aufgeklebten Paraffinschnitten.

Von

L. Neumayer
in München.

Hierzu ein Holzschnitt.

Die Notwendigkeit gleichzeitig zahlreiche auf Objektträgern aufgeklebte Paraffinschnitte zu behandeln führte zur Konstruktion von Apparaten, die in vielen Fällen in rationeller Weise die Prozeduren vereinfachen und abkürzen.

Wenn ich von den vielfach im Gebrauch befindlichen Farbtrögen aus Porzellan, Glas etc. absehe, die — wie schon der erste von Mährenthal (1) oder der von Schaffer (2) angegebene Apparat — vor allem den Nachteil haben, daß die Objektträger, jeder einzeln für sich, von einer Flüssigkeit resp. Schale in die andere gebracht werden müssen, kommen hier nur jene Apparate in Betracht, welche eine größere Zahl von Objektträgern mit einem Handgriff aus einem Medium in das andere überzuführen gestatten.

Diese Idee versuchte wohl zuerst H. Strasser (3) praktisch zu verwirklichen, indem er Blechkästchen mit siebartig durchlöcherten Boden für je einen Objektträger verwandte, die zu je sechs in flache Schalen gestellt wurden.

Einen bedeutenden Fortschritt in gewisser Hinsicht zeigt schon das von J. Dewitz (4) aus Glas konstruierte „Gestell für Objektträger bei Serienschnitten". Hier können mindestens 10 Objektträger zu gleicher Zeit behandelt werden, indem der mit Objektträgern beschickte Apparat von einer Flüssigkeit in die andere übergeführt wird.

Auf denselben Prinzipien fußt der von R. Borrmann (5) angegebene Apparat. Borrmann, der das von Dewitz angegebene Modell nicht erwähnt, konstruierte seinen Apparat aus Messing. Ein aus diesem Metall hergestellter Rechen hält die auf einem messingenen Wellblech ruhenden Objektträger der Länge nach in vertikaler Rich-

tung und kann montiert mit 30 Objektträgern — oder 60, wenn je zwei zusammen in ein Fach gebracht werden — an einer Stangenführung in den Flüssigkeitsbehälter eingesenkt oder herausgehoben werden. Die hierdurch erzielten Vorteile sind in die Augen springend: Es können die 60 Objektträger wie ein einziger zu gleicher Zeit entparaffiniert, vollständig gleich stark gefärbt und aufgehellt werden. Die Flüssigkeitsmenge von 300 bis 400 cc ist der großen Anzahl von Objektträgern entsprechend und kann öfters gebraucht werden.

Im Jahre 1901 demonstrierte v. Apáthy (6) auf dem Zoologenkongreß in Berlin eine Serienklammer, die ohne Benutzung eines in Fächer geteilten Gefäßes mehrere Objektträger zu gleicher Zeit zu behandeln gestattet. Durch eingelegte Glasleisten werden die Objektträger voneinander getrennt und durch Federkraft zusammengehalten.

Von denselben Gesichtspunkten ausgehend konstruierte Ariëns Kappers (7) einen Apparat. Derselbe besteht aus einem Metallkästchen, in das die Objektträger — bis zu 14 Stück — durch Glasklötze voneinander getrennt, eingesetzt und durch Federwirkung festgehalten werden.

Zu erwähnen sind noch die von K. Holzapfel (8) und S. Lichtenberg (9) angegebenen Objektträgergestelle. Bei jenem werden die Objektträger — bis zu 30 Stück — durch rechenförmige Glasrahmen in aufrechter Stellung in genau passende Glasgefäße gebracht; der von S. Lichtenberg angegebene Apparat ist von vier aus Nickelin hergestellten gekerbten Rahmen konstruiert, in die — in maximo 12 — Objektträger ebenfalls der Länge nach eingesteckt und das Ganze mittels eines über die oberen Enden der Objektträger heraussehenden Verbindungsarmes in die verschiedenen Reagentien gebracht werden kann.

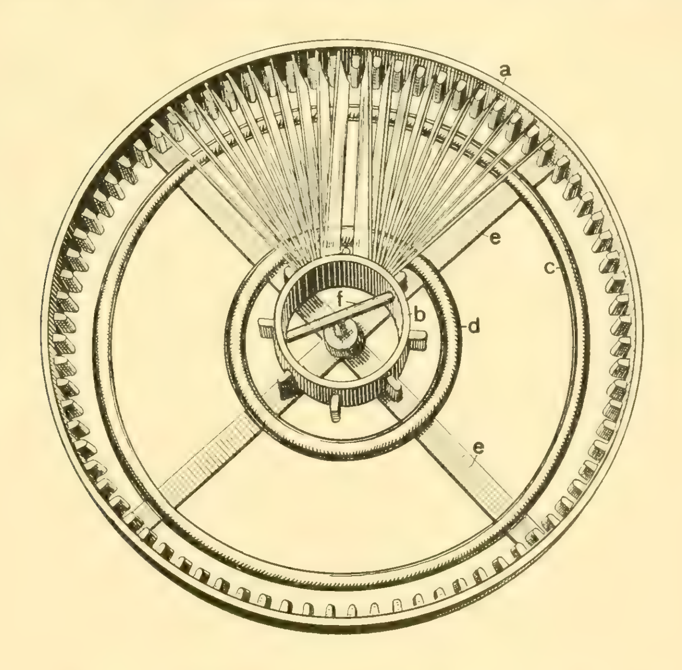
Aus dieser kurzen Zusammenstellung der bisher konstruierten Apparate ergeben sich zwei Systeme — abgesehen von den mit Rippen versehenen Farbtrögen — von Apparaten für Massenfärbungen:

1) Die stabilen Rahmen aus Glas oder Metall; hierher gehören die von Dewitz, Borrmann, Holzapfel und Lichtenberg angegebenen Vorrichtungen. 2) Die nach dem Prinzip federnder Zangen konstruierten Objektträgerhalter von Apáthy und Ariëns Kappers.

Da ich für Kurszwecke 80 und mehr Objektträger gleichzeitig zu färben, entwässern etc. hatte, versuchte ich die praktische Verwendbarkeit der meisten oben angegebenen Objektträgergestelle mit wenig befriedigendem Resultate. Während die einen durch die ge-

ringe Anzahl der aufgenommenen Objektträger kaum ein rascheres Arbeiten als die Farbtröge ermöglichten, erwiesen sich die andern infolge ihrer Zerbrechlichkeit als wenig ökonomische Instrumente. Diese und noch andere Gründe veranlaßten mich, einen soliden, einfachen Apparat zu konstruieren, der, handlich, eine Mindestzahl von 80 Objektträgern (engl. Format) zu gleicher Zeit zu behandeln gestattete.

Beistehende Figur zeigt das Instrument in der Ansicht von oben. Es besteht aus zwei konzentrischen Reifen *a* und *b*, welche durch



zwei rechtwinklig aufeinanderstehende Balken — *e* und *e* — fixiert werden. Die beiden Reifen haben je eine Höhe von 2·9 cm und stehen 7·9 cm in lichter Weite voneinander ab, so daß ein Objektträger vom englischen Format leicht der Länge nach eingeschoben werden kann. Auf den Querbalken *e* — *e* laufen je 1 cm vom äußern und innern Reifen entfernt zwei Ringe *c* und *d*, die den Objektträgern als Unterlage dienen. An der Innenseite des äußeren Reifens *a* springen 80 ungefähr 1·8 cm hohe Leisten vor, die ca. 0·4 cm breite Spalten zwischen sich lassen, in die die Objektträger eingeschoben werden. Der innere Reifen *b* trägt acht solche

Leisten, die in etwa 2 cm Entfernung voneinander stehen und ebenso wie die am äußeren Reifen etwas niedriger wie dieser sind. Der Raum, der zwischen je zwei Leisten des inneren Reifens sich findet, reicht vollkommen aus, um 10 Objektträger von gewöhnlicher Dicke zu fassen, ja es bleibt noch Raum, so daß in jeden Fächer je zwei Objektträger eingeschoben, in maximo also 160 Objektträger zu gleicher Zeit behandelt werden können. Eine Partie des montierten Apparates zeigt der nach oben gekehrte Quadrant der Abbildung, wo die Lage der Objektträger zu erkennen ist.

Dort, wo sich die beiden Querbalken *e* und *e* innerhalb des inneren Ringes (*b*) überkreuzen, ist in einen zylindrischen Zapfen ein T-förmiges Metallstück (*f*) eingeschraubt. An diesem kann der ganze Apparat mit Hilfe eines hakenförmigen Schlüssels, der dem Apparate beigegeben ist, gefaßt und in die verschiedenen Reagentien transferiert werden.

Zur Herstellung dieses Objektträgergestelles wurde Gußeisen verwendet, das weiß emailliert gegen alle in der histologischen Technik angewandten Reagentien genügend widerstandsfähig ist. Aus der Verwendung dieses Materials erklärt sich das relativ große Gewicht des ganzen Apparates, das bei vollständiger Füllung mit 80 Objektträgern noch um ca. 400 g steigt. Andrerseits ist aber hierdurch eine Haltbarkeit des Instrumentes erzielt, die allen Anforderungen im Laboratorium sowohl wie in Kursen genügen dürfte. Ich hebe hier hervor, daß wir auch Versuche mit andern Metallen, wie z. B. Aluminium zur Herstellung des Apparates gemacht haben, daß aber die bisherigen Erfolge gerade mit diesem Metall, wenn auch eine Gewichtsverminderung auf 365 g erzielt wurde, wenig befriedigend waren. Vielleicht ergeben weitere Versuche mit Legierungen dieses Metalles bessere Resultate. Als Behälter für die verschiedenen Reagentien verwende ich die Koch'schen Kulturschalen. Bei der Überführung der Präparate empfiehlt es sich, die den Objektträgern oder zwischen denselben adhärierende Flüssigkeit abtropfen zu lassen oder noch besser mit einem Fließpapierbauschen von unten her abzusaugen. Wird in dieser Weise verfahren, so lassen sich Toluol, Alkohol etc. öfters gebrauchen und wird an Reagentien mehr gespart, als wenn eine Reihe kleiner Apparate verwendet würde.

Die bis jetzt verwendeten Apparate haben sich auf das beste bewährt; die Vorzüge derselben liegen vor allem in der großen Zeitersparnis, die das Arbeiten mit ihnen bei Massenfärbungen gewährt, in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen alle Reagentien, gegen große

Hitze und in der Gleichmäßigkeit der Färbung, die bei absolut gleich langer Tinktion sämtliche Schnitte zeigen.

Die beschriebenen Objektträgergestelle sind durch das Spezialgeschäft für Mikroskopie und medizinische Diagnostik von Dr. A. Schwalm, München, Sonnenstraße 10, zu dem Preise von 6 Mark zu beziehen, welches auch die technische Ausführung der Apparate übernommen hatte.

Literaturverzeichnis.

1) Zitiert bei Dewitz, J., Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXXIII, p. 416.

2) Schaffer, J., Ein Glasgefäß zur Verarbeitung umfangreicher aufgeklebter Schnittserien (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XI, p. 150). — Derselbe, Ein neuer gläserner Farbtrog für Serienschnitte (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIX, p. 297).

3) Strasser, H., Über die Nachbehandlung von Serienschnitten bei Paraffineinbettung (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. III, 1886, p. 346).

4) Dewitz, J., Gestell für Objektträger bei Serienschnitten (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXXIII, p. 416).

5) Borrmann, R., Ein neuer Apparat zur bequemen, schnellen und gleichmäßigen Färbung und Weiterbehandlung von Serienschnitten (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XI, p. 459).

6) Apáthy, S. v., Über einige neue mikrotechnische Vorrichtungen. Mit Demonstration der Apparate, 9 Figg. (Ber. üb. d. Verh. d. 5. Internat. Zool. Kongr. Berlin 1901).

7) Ariëns Kappers, C. U., Ein kleiner Apparat für die Gesamtbehandlung vieler Objektträger (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI, p. 185).

8) Holzapfel, K., Gestell für Objektträger bei Reihenschnitten (Arch. f. mikrosk. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd LIX, p. 457).

9) Lichtenberg, S., Objektträgergestell zur gleichzeitigen Behandlung zahlreicher Schnitte (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI, p. 321).

[Eingegangen am 19. Juni 1905.]

Kreosot als wasserentziehendes Mittel bei der Einbettung in Paraffin.

Von

W. Pavlow
in Charkow.

Die üblichen Methoden für Einbettung in Paraffin bestehen im allgemeinen in folgendem. Die fixierten Objekte werden in Wasser gewaschen und hiernach in Alkohol verschiedener Stärkegrade zur Entwässerung und Härtung gelegt. Weiter bringt man sie in Flüssigkeiten, welche Paraffin lösen (z. B. Xylol, Toluol etc.) und endlich in reines Paraffin. Die Entwässerung und die Härtung in absolutem Alkohol wird als unerläßlich für die Einbettung in Paraffin betrachtet.

Der Nachteil dieser Methode ist allen bekannt. Wenn das Objekt bei der Übertragung in Xylol, Toluol etc. nicht gut genug entwässert ist, so wird es von den Flüssigkeiten und vom Paraffin nicht durchdrungen, und infolgedessen schneiden sich solche Präparate schlecht.

Zur völligen Entwässerung ist es unbedingt nötig, die Objekte längere Zeit im Alkohol, welcher einige Male gewechselt wird, zu halten, was — von den Kosten abgesehen — die fixierten Gewebe angreift: sie schrumpfen, brechen leicht etc.

Die von mir vorgeschlagene Methode der Einbettung der Objekte in Paraffin erleichtert die Sache sehr, und die Präparate fallen dabei nicht schlechter aus als bei der alten.

Die in irgendeiner Flüssigkeit fixierten, und wenn nötig, mit Wasser gewaschenen Objekte werden ohne vorhergehende Entwässerung in Creosotum fagi auf 4 bis 24 Stunden (je nach der Größe des Objekts), dann auf 2 bis 3 Stunden in reines Kreosot gebracht, dann auf Filtrierpapier zur Entfernung des überschüssigen Kreosots gelegt, auf eine Stunde in Xylol oder Toluol übertragen, und dann wie gewöhnlich im Paraffin eingebettet.

Man kann auch aus dem reinen Kreosot direkt ins Paraffin übertragen. Die auf solche Weise eingebetteten Objekte werden gut vom Mikrotom geschnitten, färben sich gut und stehen den mit vorangehender Entwässerung eingebetteten Objekten nicht nach.

[Eingegangen am 4. Juni 1905.]

[Istituto di Clinica Medica della R. Università di Messina. Diretto dal Prof. Cav. U. Gabbi.]

Su di un Metodo di Colorazione e Conservazione permanente del Sedimento urinario.

Dei

Dott. Pietro Fiorentini, ed **M. Signer,**
I° Assistente — Assistente volontario.

Con una tavola (tab. I).

Tutti coloro che si sono occupati di ricerche di microscopia clinica sono d'accordo nell'ammettere che è una buona pratica colorare il sedimento urinario, ed in ispecie perchè i cilindri ialini sono talora così diafani da riuscirne difficile l'osservazione.

Jaksch[1] dice che indiffenteremente si possono usare il picro-carminio, il violetto di Genziana, l'eosina, l'ematossilina acida, la saffranina, il Bruno di Bismarck. Tale affermazione è certamente inesatta giacchè, come vedremo in seguito, alcune di tali sostanze coloranti rispondono assai mediocremente allo scopo.

Beale[2] consiglia il Rosso di Magenta, che corrisponde assai bene; Knoll[3] il Violetto di Metile. — Altri, ed anche lo stesso Jaksch, raccomandano la soluzione iodoiodurata, l'acido osmico, il bicromato

[1]) Jaksch: La diagnosi clinica delle malattie interne (Milano, Vallardi).
[2]) Beale: Arch. of Med. 1863.
[3]) Knoll: Zeitschr. f. Heilk. 1882—1884.

potassico; Coplin[1] il Sudan III per il grasso; Padoa[2] la doppia colorazione che si ottiene col Sudan III (Daddi) ed il Bleu di Metile.

È stata usata la fucsina, l'ematossilina alluminata, Padoa à esperimentato con la mucomateina e col mucocarminio, constatando, a differenza di Meyer ed Harris, che queste 2 ultime sostanze non presentano alcun speciale vantaggio. Non furono dimenticati l'acido picrico, le soluzioni ammoniacali di Carminio, la tintura di Jodo.

Noi abbiamo provato, senza risultati degni d'interesse, l'orceina, il rosso magdala, la cocciniglia, la tionina fenica.

Gli inconvenienti a cui danno luogo questi metodi varii di colorazione si possono brevemente riassumere così:

Le soluzioni alcaline sciolgono in parte i cilindri mentre in quelle neutre questi si rigonfiano ed assumono assai male il colore. I cristalli subiscono anch'essi delle alterazioni più o meno notevoli.

L'acido osmico dà dei preparati in genere assai confusi a causa della notevole quantità di precipitato, e per quanto si cerchi, non è possibile ottenere preparazioni nitide e pulite.

Inoltre il metodo è poco spedito giacchè l'acido osmico deve agire a lungo. Padoa, che si è molto occupato dell'argomento, non ha avuto anch'egli buoni risultati.

L'ematossiline rispondono discretamente purchè l'orina non contenga muco e non si tratti della alluminata, e così pure rispondono discretamente allo scopo „l'eosina, il violetto di Genziana, la fucsina acida, l'acido picrico, il bleu di metile, la tintura di jodio, sempre in soluzioni diluite.

Il metodo della doppia colorazione proposto da Padoa col Rosso Sudan III (Daddi) ed il bleu di metile serve molto bene per la ricerca del grasso nei cilindri urinarii.

Ma ciò che colora ottimamente il sedimento urinario nei suoi singoli componenti è la miscela triacida di Ehrlich. Con questa si ha una colorazione di contrasto che è veramente interessante.

Il protoplasma cellulare ed i globuli rossi assumono una distintissima colorazione rosso orange, mentre i globuli bianchi si colorano nel loro protoplasma in rosso, i nuclei in verde e così pure i microorganismi. Gli spermatozoi assumono nella porzione cefalica una bella colorazione verde, mentre la coda si colora più debolmente:

[1]) Coplin: Reazioni microchimiche dei cilindri renali (British Med. Journ. 1902).

[2]) Padoa: Riv. Crit. Clin. Med. 1904.

i cilindri ialini si colorano in un delicatissimo colore violetto, mentre i granulosi, ed i cerei in rosso orange, gli ialino granulosi assumono tale doppia colorazione. I cristalli in genere non vengono alterati. Gli elementi nei cilindri assumono il colore nel modo già indicato.

I granuli grassosi spiccano più distintamente (vedi tavola). Castellino à recentissimamente confermata la nostra osservazione (Sahli Punt^a V^a).

Inoltre nel metodo che noi veniamo indicando ciò che ha speciale importanza è quanto riguarda non la tecnica di Colorazione, ma quella di Conservazione. È noto che il volere fare dei preparati permanenti di sedimento urinario è cosa difficile per il fatto che il sedimento subisce sia col prosciugamento all'aria, sia con quello al calore anche lieve o con l'alcool o coi metodi di Lenker, Marchi o Müller, delle modificazioni e dei guasti più o meno gravi secondo che si tratta di cellule, di globuli, di cilindri e di cristalli. Questi due ultimi in genere sono i più danneggiati.

Per questo si usa molto poco il metodo di Conservazione permanente di sedimento urinario. Noi facendo una serie di ricerche sul proposito abbiamo potuto constatare che il sedimento non subisce alcuna modificazione ove venga trattato con glicerina lievissimamente acida.

Forti di questa osservazione, dopo avere raccolto il sedimento urinario o mediante centrifugazione o lasciandolo precipitare in cilindri di vetro, dopo averlo rapidamente colorato con la miscela triacida, lo abbiamo trattato con glicerina leggermente acidulata.

Una goccia del sedimento così colorato e preparato, posto su di un porta oggetti, ricoperto dal relativo coprioggetti, si luta con Bitume Giudaico.

In tal modo si ottengono dei preparati permanenti, ottimamente colorati, che resistono inalterati alla luce ed all'aria per dei mesi. (La tavola rappresenta una goccia di sedimento d'urina di un nefritico degente in clinica nel febbraio. Il preparato venne precisamente allestito in tale epoca, il disegno fu fatto 3 mesi dopo senza che durante tale periodo di tempo il sedimento subisse alterazione alcuna.)

L'utilità quindi di tal metodo è grandissima in ispecie dal punto di vista dimostrativo, in quanto che si può così tenere e rievocare, quando si voglia, tutta l'evoluzione di un processo renale.

[Eingegangen am 15. Juni 1905.]

Eine Entkalkungsmethode für Gewebe, welche wenig organische Substanz enthalten, insbesondere Zahnschmelz.

[Vorläufige Mitteilung.]

Von

C. Francis Bödecker,
D. D. S.

Hierzu eine Tafel (Tab. II).

Die außerordentliche Schwierigkeit, gute mikroskopische Präparate von dem organischen Bestandteil des Schmelzes herzustellen, veranlaßte mich, eine neue Entkalkungsmethode zu ersinnen. Bei dem Gebrauch dieser Methode ist es möglich, den gesamten protoplasmatischen Inhalt des Schmelzes in annähernd richtiger Lage zu erhalten. Durch die übliche Entkalkungsmethode, bei welcher Zähne direkt in eine dünne Säurelösung gelegt werden, wird der Protoplasmabestandteil des Schmelzes von dem des Dentins abgerissen und weggewaschen. Bessere Präparate wurden durch Entkalkung dünner Schmelzschliffe unter dem Deckglas erhalten, aber auch hierbei konnte man nur kleine starkverzerrte Reste sehen.

Bei Anwendung der neuen Methode werden die Präparate in der üblichen Weise bis zur dünnen Celloïdinlösung gebracht. Dann kommen die Stücke in die Entkalkungslösung, welche aus dickem Celloïdin mit einem Zusatz von 6 bis 10 Prozent konzentrierter Salpetersäure besteht. Die Stärke der Säure ändert sich außerordentlich wegen der schnellen Verdunstung des Alkohols und Äthers. Darum müssen alle 2 bis 3 Tage einige Tropfen Alkohol und Äther zugesetzt werden, um die richtige Konsistenz zu erhalten. Die Dauer des Entkalkungsprozesses hängt natürlich von der Größe des Präparats ab. Ich habe Schliffe von ungefähr 30 Mikron Dicke innerhalb

2 Wochen entkalkt, während ein 1 mm dicker Querschnitt von einem Bikuspidaten über 2 Monate in Anspruch genommen hat. Nachdem das Präparat 2 Tage lang in der Säurelösung verweilt hat, bekommt es ein kreideartiges Aussehen. In dem Maße aber, wie die Entkalkung fortschreitet, wird der Schmelz immer durchsichtiger, bis er zuletzt anscheinend verschwunden ist. Nur eine feine Linie markiert die äußere Grenze des Schmelzes. Wenn dieses Stadium erreicht ist, läßt man das Celloïdin allmählich erhärten. Wegen der Schwierigkeit, dünnere Celloïdinschnitte wie 10 bis 15 Mikron zu erhalten, bette ich den Celloïdinblock in Paraffin ein und erlange durch diese kombinierte Methode dünnere Schnitte.

Das Quantum organischer Bestandteile im Schmelz verschiedener Personen variiert außerordentlich. Außer den Schmelzfasern und andern protoplasmatischen Bildungen, die von meinem Vater im Jahre 1878[1] beschrieben worden sind, habe ich zwei neue Arten organischer Körper gefunden. Der eine von diesen tritt auf in der Gestalt von Bündeln dickerer organischer Fasern, welche ihren Ursprung in der Grenze zwischen Schmelz und Dentin haben und in der Richtung nach außen laufen. Diese Bündel kommen öfters in Paaren vor, und können im Schliff mit der Form eines Büschels verglichen werden. Die andern sind blattartige, wellenförmige Fortsätze, die in ungefähr derselben Richtung wie die Schmelzprismen verlaufen. Von ihrem Ursprung an der Dentingrenze durchziehen sie den Schmelz öfters bis zur Oberfläche, während die büschelförmigen Bündel nur ungefähr bis zu einem Sechstel dieser Länge eindringen. Da die blattartigen Fortsätze denselben Verlauf aufweisen wie Sprünge im Schmelz, sind sie bisher auch als solche aufgefaßt. Ein passender Name für diese Gebilde wäre „Schmelzlamellen“.

Die Methode kann auch mit Vorteil zur Entkalkung und Entkieselung der Schwämme angewandt werden. Die Entkalkung wird in der beschriebenen Weise ausgeführt, während die Entkieselung mit Flourwasserstoff in von Blei und Glimmer speziell konstruierten Gefäßen vorgenommen werden muß, worüber ich noch einen eingehenderen Bericht bringen werde.

Mit dieser Methode hoffe ich mehrere dunkele Stellen in der Entwicklung des Schmelzes aufzuklären. Auch werde ich die vergleichende Anatomie des Schmelzes nach dieser Methode durcharbeiten, und hoffe bald darüber berichten zu können.

---

[1]) BÖDECKER, C. F. W., Dental Cosmos vol. XX, p. 582.

Tab. II. Entkalkter Schnitt eines menschlichen Zahnes; Färbung mit Gold. — Unten Dentin, oben organische Bestandteile im Schmelz sichtbar.

[Eingegangen am 19. Juli 1905.]

Mikroskopisches Experiment.

Von

Karl Strehl

in Erlangen.

Auf Seite 16 meiner scheint es fast unbekannten „Theorie der allgemeinen mikroskopischen Abbildung" (Erlangen 1900) zeigte ich, daß die Beugungsspektra komplementärer Strukturen (z. B. von Löcherplatte und Körnerschicht) Hauptmaxima von gleicher, Nebenmaxima von gegensätzlicher Phase haben. Ein derartiges Verhältnis weist u. a. das reziproke Gitter auf, bei welchem die Striche zur einen Hälfte Lücken, zur andern Hälfte Leisten sind. Wenn die Maxima 0 (Hauptmaximum), 1 und 2 (1. und 2. Nebenmaximum) der oberen Hälfte gleiche Phase, d. h. die folgeweisen Vorzeichen $+ + +$ haben (dies ist z. B. der Fall bei dem Verhältnis Lückenbreite : Leistenbreite $= 1 : 2$), dann sind die entsprechenden Vorzeichen bei der unteren Hälfte (mit dem reziproken Verhältnis $2 : 1$) $+ - -$; wenn man mithin das Hauptmaximum abblendet, dann müssen die beiden Nebenmaxima (weil unter sich von gleicher Phase, die einen $+ +$, die andern $- -$, und auch gegenseitig von gleicher Stärke, die einen ebenso hell wie die andern) in beiden Hälften das gleiche Bild erzeugen, d. h. Lücke auf Lücke und Leiste auf Leiste treffen.

Diesen Versuch hat Herr Julius Rheinberg (London) photographisch fixiert, beschrieben und in seiner Weise erklärt in „The influence on images of gratings of phase-differences amongst their spectra" (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, p. 152), wovon er mir einen Abzug zu senden die Güte hatte.

Auf Seite 14 meiner oben genannten Schrift zeigte ich auch, daß das Wandern einer Struktur in Phasenänderungen der sonst scheinbar unveränderten Nebenmaxima seine Erklärung findet. Eine

Verschiebung des Gitters um die halbe Gitterkonstante entspricht einer Phasenänderung von Maximum zu Maximum um $\lambda/2$ mehr, mithin einer Multiplikation der entsprechenden Vorzeichen abwechselnd mit — und +.

Auch hierüber stellte Herr Julius Rheinberg Versuche an laut einem andern Abzug (Journ. R. Microsc. Soc. 1904, p. 388; gleicher Titel). Für mich ist nun wertvoll zu zeigen, daß die Verbindung beider Gesichtspunkte gestattet, aus dem Beugungsspektrum der zentrierten (d. h. die Mikroskopachse mit einer Lücke, nicht Leiste, treffenden) oberen Hälfte das der zentrierten unteren Hälfte abzuleiten.

Wenn die Vorzeichen für die obere Hälfte + + + sind, dann sind sie aus Gründen der Reziprozität (komplementären Struktur) für die untere Hälfte + — — nach der Verschiebung um die halbe Gitterkonstante, vor der Verschiebung, d. h. für die zentrierte untere Hälfte mithin + + —; hierin kommt der angeblich erst von A. E. Conrady bemerkte Phasenwechsel der Nebenmaxima zum Ausdruck.

Tatsächlich ist der Vorzeichenwechsel an Stelle der absoluten Minima (dunkeln Beugungsringe) schon längst (mindestens seit v. Lommels Arbeiten) bekannt; ihm Rechnung zu tragen, lassen die in meiner Mikroskoptheorie für die Beugungsspektra eingeführten allgemeinen Koeffizienten $h\ i\ j\ k$ ohne weiteres zu. Daß, wenn eine unendliche, periodische, regelmäßige Struktur an Stelle einer kontinuierlichen Beugungsfigur, wie sie durch eine einzige Öffnung entsteht, durch das Zusammenwirken aller Öffnungen isolierte Maxima zeigt, diese dann an der örtlichen verhältnismäßigen Lichtstärke und Phase teilnehmen, dies ist wohl selbstverständlich. Einige Sätze über Zahl und Lage der positiven Nebenmaxima zwischen Zentrum und 1. absolutem Minimum allerdings sind interessant und erscheinen mir für den Augenblick neu.

Und so begrüße ich denn die angezeigten hübschen und verdienstlichen Experimente als willkommenen Anlaß, Anregung zu geben, daß man auch bei uns — nicht nur in England — sich eifrig mit beugungstheoretischer Optik beschäftige. Möge man jedoch auch von dem Einsicht nehmen, was schon vorhanden ist; denn der Rohbau ist im großen und ganzen schon fertig, es wird sich meines Erachtens meist nur um die Ausschmückung einzelner Räume handeln.

[Eingegangen am 14. Juni 1905.]

Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie seit Zimmermanns „Botanischer Mikrotechnik“.

Sammelreferat

von

Dr. Oswald Richter

in Prag.

Einleitung.

Die ungeahnte Höhe, zu der sich die Mikrochemie als Hilfswissenschaft der Botanik aufgeschwungen hatte, veranlaßte 1881 Poulsen auf Anregung Warmings sein Werkchen „Die botanische Mikrochemie“ zu veröffentlichen, die sich als treffliches Hilfsmittel in der Hand des Botanikers erwies.

Zu derselben Zeit beschäftigte sich W. Behrens mit der Redaktion seines Werkes „Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen“, bei dem er sich als Ziel gesteckt hatte, die „wichtigsten Reaktionsmethoden und die mikroskopische Untersuchung der Pflanzenstoffe“ in erschöpfender Darstellung zu bringen.

War Poulsens Werk ein Führer für Anfänger, so sollte dieses dem Fachmanne gleichzeitig einen vollkommenen Einblick in die einschlägige Literatur bieten und dadurch zu einem großen wertvollen Hilfsbuche werden.

In der richtigen Erkenntnis, daß die Botaniker bei der Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel das Hauptgewicht auf die Anatomie, die Chemiker aber bloß auf die in den Objekten gefundenen Stoffe legten, veranlaßte Molisch zu einer Verbindung dieser getrennten Standpunkte und wies so der Mikrochemie auch die gebührende Rolle in der Nahrungsmitteluntersuchung zu. Die

häufige Bezugnahme auf seinen „Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel“ gibt den besten Beleg dafür, wie notwendig dieser Fortschritt war.

Somit war seit POULSEN und W. BEHRENS etwa ein Dezennium verstrichen, während welchem die Mikrochemie immer neue Gebiete eroberte, und die Fülle von Schriften botanisch-mikrochemischen und mikroskopisch-technischen Inhalts, die in den verschiedensten Zeitschriften veröffentlicht worden waren, hatten das Bedürfnis gezeitigt, sie zusammenfassend und kritisch zu behandeln. In wie ausgezeichneter Weise ZIMMERMANN dieser schwierigen Aufgabe gerecht wurde, beweist die starke Verbreitung seines Werkes „Die botanische Mikrotechnik“ und die große Beliebtheit, deren es sich erfreut.

Um dieselbe Zeit baute H. BEHRENS in Verfolgung der durch K. HAUSHOFERS „Mikroskopische Reaktionen“ gegebenen Anregungen sein großes System der mikrochemischen Analyse aus, um es 1895 bis 1897 in seiner „Anleitung zur mikrochemischen Analyse“ zum Abschluß zu bringen.

Daß bei der Fülle von Stoff, der zu bewältigen war, mancher geringe Fehler unterlaufen ist, so z. B. gewisse Reaktionen ohne genügende Überprüfung mit aufgenommen worden sind, tut der BEHRENSschen Leistung keinen Eintrag und wird dem Verfasser des großen Werkes den Ruhm nicht nehmen, der Begründer des Systems der mikrochemischen Analyse gewesen zu sein.

Es braucht kaum hervorgehoben zu werden, daß BEHRENS besonders bei der Analyse der wichtigsten Faserstoffe der botanischen Mikrochemie gerecht wurde.

In kurzen Zügen ist er auf den technischen Teil seiner Ausführungen im Jahre 1900 in seinem Büchlein „Mikrochemische Technik“ zurückgekommen.

Inzwischen gab W. BEHRENS auch ein sehr beliebt gewordenes Buch heraus; seine „Tabellen zum Gebrauche bei mikroskopischen Arbeiten“, das dem Tier- wie dem Pflanzenhistologen gleich wert geworden ist.

Kurz sei auch auf DÜNNENBERGERS „Chemische Reagentien und Reaktionen“ verwiesen, die von einem Apotheker für Apotheker und Chemiker geschrieben, durch Aufnahme auch von botanisch-mikrochemischen Reaktionen Interesse für die botanische Mikrochemie gewinnen.

Doch speziell mit dieser Wissenschaft hat sich seit ZIMMERMANNS erwähntem Buche kein größeres Werk beschäftigt.

Seit dem Erscheinungsjahre der „Mikrotechnik“ war wiederum etwa ein Dezennium verflossen und die inzwischen angehäufte Literatur hat ein neues großartig angelegtes Werk gezeitigt, dessen Verfasser, vornehmlich Ärzte und Chemiker, ihr Hauptaugenmerk natürlich der Mikrotechnik auf menschen- und tierhistologischem Gebiete zuwandten, die aber, um den Einseitigkeitsstandpunkt zu vermeiden, sich auch mit Botanikern in Verbindung setzten und so ein Werk zu schaffen verstanden, das in der mikroskopischen Technik einzig dasteht, die „Enzyklopädie der mikroskopischen Technik“ von P. Ehrlich, R. Krause, M. Moose, H. Rosin. Berlin u. Wien (Verlag Urban u. Schwarzenberg) 1903.

Den botanischen Teil übernahm W. Magnus, Berlin.

Der schlagwortweisen Anordnung der Enzyklopädie entsprach es natürlich, daß auch die botanischen Daten in derselben Weise geliefert wurden, wodurch sie sich wohl harmonisch in den Rahmen des Ganzen fügten, dabei aber sachgemäß ihren inneren Zusammenhang preisgaben.

Da nun W. Magnus' Ausführungen die letzten zusammenfassenden Erörterungen über botanische Mikrochemie enthalten, so ergibt sich hier eine Lücke — es fehlt ein Sammelreferat für botanische Mikrochemie über die letzten 12 Jahre —, das zu übernehmen, beziehungsweise die auszufüllen ich von dem Herausgeber dieser Zeitschrift gebeten wurde. Eine derartige Literaturzusammenstellung über Arbeiten auf dem Gebiete der botanischen Mikrochemie wird um so berechtigter erscheinen, als diese sehr an Bedeutung gewonnen hat.

Im Jahre 1867 hat sie Wiesner die Mittel in die Hand gegeben, seine „Einleitung in die technische Mikroskopie“ zu schreiben. Und wer heute die im Jahre 1900 erschienene zweite, gänzlich umgearbeitete und erweiterte Auflage seines Werkes „Die Rohstoffe des Pflanzenreiches“ durchsieht und auf die Einleitung, dann gewisse Kapitel wie „Physikalisch-mikroskopisch-chemische Charakteristik des Indigo“, „Chemische Eigenschaften der Stärke“, „Chemische Charakteristik des Holzes und der andern fibrösen Pflanzengewebe“, „Chemische Eigenschaften der Fasern“ genauer eingeht, wird von der Bedeutung der botanischen Mikrochemie auch auf dem Gebiet der Rohstofflehre und ihrer Bedeutung überhaupt überzeugt sein. — Eine neue Richtung der Wissenschaft, die auch hervorragend durch die Mikrochemie gefördert wurde, ist die Biochemie, wie Czapeks umfassendes Werk beweist. — Man wird daher mein Beginnen, ihre Geschichte seit

Zimmermanns botanischer Mikrotechnik zu schreiben, für gerechtfertigt halten.

Mein Sammelreferat schließt also unmittelbar an Zimmermanns Mikrotechnik an, was sich auch äußerlich darin ausprägen soll, daß ich soweit wie möglich die gleiche Einteilung verwendet und damit sowohl in sachlicher wie in historischer Beziehung mit meinem Referate eine freilich äußerst unvollkommene Ergänzung dieses Werkes mich zu liefern bemüht habe.

Es ist selbstverständlich, daß ich bei der Fülle des Stoffes außer der Bewältigung der Lektüre einiger Arbeiten im Originale mich vornehmlich an Referate und hier wieder besonders an die in dieser Zeitschrift erschienenen gehalten habe.

Um nun bei den Besitzern derselben eine rasche Orientierung zu ermöglichen, habe ich auch auf die Stellen in dieser Zeitschrift verwiesen, indem ich den Titel der Arbeit in der Literaturzusammenstellung nur gekürzt wiederholte. In jenen Fällen natürlich, wo eine Besprechung in ihr noch nicht erfolgt ist, und in jenen, wo ich mich auf Seitenzahlen zu beziehen hatte, wurde die Arbeit ausführlich zitiert.

Nachdem ich so die Gedanken, die mich bei Verfassung meines Referates geleitet haben, und den Vorgang, an dem ich bei der Niederschrift festhielt, erörtert habe, übergebe ich es der Öffentlichkeit und bitte die geehrten Fachgenossen um gütige Nachsicht.

I. Abschnitt:

Anorganische Verbindungen.

Sauerstoff O_2.

Als empfindlichstes bisher bekanntes Reagens auf Sauerstoff gilt die Engelmannsche Bakterien-Methode.

Fast scheint sie aber übertroffen durch den von Beijerinck angegebenen Sauerstoffnachweis mittels Leuchtbakterien. Zieht man in einer Eprouvette mit chlornatriumhaltiger Fleischbouillon Leuchtbakterien, so zeigt sich, daß sie nur oben leuchtet, dort, wo die Bakterien unmittelbar mit der Luft in Berührung kommen, tiefer unten verlischt infolge des durch Atmung erzeugten Sauerstoffmangels

das Leuchten der geschüttelten Eprouvette alsbald. Wirft man ein Zweigstück von Fucus in die Bouillon und wartet im Dunkeln das Dunkelwerden am Eprouvettengrunde ab, so genügt nachher das Licht eines Streichhölzchens, um das Fucusfragment zum Leuchten im Dunkeln zu veranlassen. Der Moment der Beleuchtung hat genügt, um die Kohlensäureassimilation zu induzieren. Und jene Spur abgeschiedenen Sauerstoffes reicht aus, um die Bakterien zum Leuchten zu bringen. — Beijerinck hat diese Methode später zur Untersuchung der Chlorophyllfunktion benutzt und Molisch sie zum Nachweis postmortaler Assimilation bei Lamium album - Blättern verwendet.

Das Problem der Assimilation hat auch Kohl die alte Bläschenzählmethode in eine neue mikroskopisch verwendbare umsetzen lassen. Er nennt die Modifikation: die volumetrische Bläschenzählmethode. Eine geeignete Versuchsanstellung gestattet nämlich, die Durchmesser der sich bildenden Bläschen sofort abzumessen, wodurch die Möglichkeit auf das Volumen zu schließen, unmittelbar gegeben ist.

Zumeist findet der Sauerstoff in physiologischer Beziehung Erwähnung. Molisch und Lidforss beweisen die Notwendigkeit von Sauerstoff zum Auskeimen des Pollens und Molisch, daß die Pollenschläuche nur eine ganz bestimmte O-Spannung lieben und vor dem Sauerstoff der Luft fliehen („negativer Aerotropismus“). Im übrigen vergleiche man die üblichen Lehrbücher.

Schwefel S.

Nach H. Behrens wird der Schwefel als Calciumsulfat, als Caesiumalaun und als Bleisulfat nachgewiesen. Es wird wohl einmal notwendig sein, die Verwendbarkeit dieser mikrochemischen Methoden für den Nachweis des Elementes in der Pflanze darzutun.

Bekanntlich erscheint der Schwefel in elementarer Form bei den Schwefelbakterien. In zusammenfassender Darstellung findet man unsere derzeitigen Kenntnisse dieser Organismen in dem „Handbuch der technischen Mykologie“ unter dem Titel „Der Kreislauf des Schwefels“ von W. Omelianski wiedergegeben. — Einen neuen Schwefelorganismus hat Hinze in der Thiophysa volutans entdeckt. Die in den Zellen der Thiophysa gelegenen Körnchen bestehen ebenso wie die der Beggiatoa aus Schwefel. In reinem Glyzerin kristallisiert der Schwefel allmählich in monoklinen Kristallen aus. In entschwefelten Thiophysen scheinen Schwefelbildner sichtbar zu wer-

den. Auch bei Oscillarien konnte HINZE einen sehr beachtenswerten Befund verzeichnen, der auf die „Gasvakuolenfrage" ein Streiflicht wirft. HINZE hat nämlich bei gewissen Oscillarien diese „Gasvakuolen" als Schwefel erkannt, den er in reinem Glyzerin zur Kristallisation brachte.

Färbung des Schwefels. Gibt man nach A. FISCHER ein Präparat von Chromatium ohne vorherige Entschwefelung und Färbung in Kanadabalsam oder Damarlack, so sind die Chromatien nach 10 Minuten entfärbt und statt des Schwefels sind schön rotgefärbte Kugeln und Körnchen da. Bei Betrachtung in Luft war Schwefel und Farbstoff getrennt vorhanden.

GOLA verwendet die Rotfärbung, die Schwefel mit Nitroprussidnatrium gibt, auch für mikrochemische Zwecke. Besonders junge Triebe von Asparagus sollen für derartige Untersuchungen sehr geeignet sein.

Salzsäure HCl und deren Salze.

Die gebräuchlichsten Reaktionen auf Chlor führen zu den Fällungen als Thallo- und Silberchlorid und Thallo- und Kaliumchloroplatinat. Davon sind in die botanische Mikrotechnik bis jetzt die ersten zwei mit Erfolg eingeführt worden. In neuerer Zeit hat MOLISCH die Milchsäfte mit den gleichen Reagentien auf Chlorgehalt untersucht und sie je nach den Versuchsobjekten sehr verschieden reich an diesem Stoffe gefunden. Chlorkaliumkristalle erzielte MONTEVERDE.

Jod-J.

Durch eigenartige Zellen von Bonnemaisonia asparagoides wird nach GOLENKIN freies Jod oder eine stärkebläuende Jodverbindung ausgeschieden; diese Zellen enthalten eine große stark lichtbrechende Vakuole, welche nach ausgeführten Reaktionen weder Gerbstoffe, noch fettartige Stoffe enthält. Hingegen färben sich die Vakuolen mit Cyanin intensiv braun. Dieses bildet mit Jodlösungen einen braunen in Wasser ziemlich schwer löslichen, unbeständigen Niederschlag. GOLENKIN glaubt damit ein für botanische Zwecke sehr gut verwertbares mikrochemisches Reagens auf Jod angegeben zu haben. Ich kenne nun zwar diese Reaktion weiter nicht, weiß auch nichts von ihrer Empfindlichkeitsgrenze, möchte aber doch denken, daß, so lange Reaktionen, die auf Bildung von Jodamylum, Thallo-, Silber-, Pallado-, Mercurijodid und Kaliumjodoplatinatbildung beruhen, existieren, man nicht zur Jodcyanin(?)bildung Zuflucht nehmen sollte, um so mehr als in der Mikrotechnik (man vgl. das Kapitel: „Verkorkte Membranen") dem zur Reaktion verwendeten Cyanin ja noch eine Unzahl anderer Funktionen zukommen.

Schwefelsäure $SO_2(OH)_2$ und deren Salze.

Zum Nachweise der Schwefelsäure fehlt es auch heute noch an einer zuverlässigen Methode. Über den Nachweis mit Baryumchlorid und Strontiumnitrat und als Kaliumsulfat und Natriumsulfat, vgl. Z. M.[1], p. 48.

Belzung und Poirault haben sie im ausgepreßten Safte von Angiopteris evecta nachgewiesen.

Salpetersäure NO_2OH, salpeterige Säure $NO\,OH$ und deren Salze.

Während der Einwand, den man gegen Molischs Diphenylaminschwefelsäure-Probe machen könnte, die Nitrite würden mit ihr gleichzeitig angezeigt, für die Pflanze wegen des vollständigen Fehlens dieser letzteren in ihr kaum in Betracht kommt, ist ein zweiter, daß in verholzten Membranen die Nitratprobe auch bei großer Menge Nitrates ausbleiben kann, unangenehmer. Ellram hat sich nun dem mikrochemischen Nachweise der Nitrate in Pflanzen gewidmet, um speziell die wertvolle Diphenylaminprobe nach dieser Richtung zu überprüfen. Wie bekannt, hat Arnaud und Padé salzsaures Cinchonamin ($C_{19}H_{24}N_2O$) als neues Nitratreagens empfohlen. Für den mikrochemischen Nachweis von Nitraten in Pflanzen hat nach Ellrams Kontrollversuchen das neue Reagens gar keinen Wert.

„Die von Molisch empfohlene Diphenylaminschwefelsäure ist nicht nur das empfindlichste Reagens auf Nitrate überhaupt, sondern auch in Verbindung mit Ellrams Ligninreagens das nach allen Richtungen hin am meisten genügende und unter allen Umständen praktisch brauchbarste Reagens für den mikrochemischen Nachweis bei pflanzenphysiologischen Forschungen. Alle andern Methoden sind minderwertig.

Lösungen von α-Naphthol, β-Naphthol und Cinchonamin in konzentrierter Schwefelsäure sind recht empfindliche Reagentien auf Nitrate und Salpetersäure, lassen sich aber bei phytophysiologischen Untersuchungen kaum mit Nutzen verwerten.

Außer in verholzten Geweben ist bei pflanzenphysiologischen Untersuchungen mit Diphenylaminschwefelsäure eine eventuelle Beeinträchtigung der Oxydation des Diphenylamins vermittels vorhandener Nitrate (Salpetersäure) durch reduzierende Wirkung der in den betreffenden Gewebearten vorhandenen oder etwa sich bildenden Stoffe entweder ausgeschlossen oder für die Beobachtung der Reaktion selbst praktisch genommen unwesentlich.

[1]) Z. M. = Zimmermanns Mikrotechnik.

In vollkommen verholzten Geweben typischer Holzgewächse können sich Nitrate befinden, die sich dann mittels der Diphenylaminschwefelsäure nachweisen lassen nach vorgenommener Ligninreaktion mit dem Diphenylaminligninreagens."[1]

Ein neues Reagens auf Salpetersäure verdanken wir R. Brauns. Behandelt man einen Tropfen der Lösung, in der man ein Nitrat vermutet, mit einem Tropfen Baryumchlorid und erwärmt man auf dem Wasserbade, so scheiden sich aus der nitrathaltigen Lösung farblose, scharf ausgebildete reguläre Oktaëder von Baryumnitrat aus, die meist auf einer Oktaëderfläche liegen, weshalb sie dreiseitige oder sechsseitige Umrisse zeigen.

Ob sich diese Reaktion auch für phytophysiologische Versuche wird verwerten lassen, wird die Zukunft zeigen.

Über andere Arten des Nachweises vergleiche H. Behrens, A. z. m. A.[2] p. 113—115. Es ist selbstverständlich, daß alle von H. Behrens angegebenen Methoden in ihrer Verwendbarkeit für die Pflanzen erst überprüft werden müssen. Bisher bleibt nach Ellrams Befunden die Diphenylaminschwefelsäure das zweckmäßigste Nitratreagens. Es hat daher auch in allen Handbüchern Aufnahme gefunden.

Von neueren Experimenten mit dieser Probe möchte ich das negative Resultat erwähnen, das Molisch bei Milchsäften zumeist erhielt. Bezüglich Auftretens von Kaliumnitrat in kristallisierter Form vergleiche man Zimmermanns Mikrotechnik p. 50 und das im Kapitel „Kalium“ darüber Erwähnte.

Phosphorsäure $PO(OH)_3$ und deren Salze.

Zum mikrochemischen Nachweis von Phosphorsäure werden besonders Salpetersäure mit molybdänsaurem Ammon und Magnesiumsulfat mit Chlorammonium verwendet. Beide haben sich auch in der botanischen Mikrochemie bewährt, freilich fehlt beiden der Vorzug der lokalisierten Fällung des gesuchten Stoffes.

Diesem Mangel hofften nun Lilienfeld und Monti mit molybdänsaurem Ammoniak und Pyrogallol abzuhelfen. Jedoch haben Raciborskis kritische Nachprüfungen gezeigt, daß Lilienfelds und

---

[1]) Der unter Anführungszeichen gestellte Absatz ist entnommen dem Referate von E. Roth (Halle) im Bot. Zentr. Bd. LXVII, 1896, p. 74.

[2]) A. z. m. A. = Anleitung zur mikrochemischen Analyse.

MONTIS angebliche Farbenreaktion auf Phosphor mit dem Phosphor in keinem Zusammenhange steht, und somit aus der mikrochemischen Literatur gestrichen werden muß.

Kurze Zeit nach RACIBORSKIS kritischem Referate versuchte POLLACCI eine neue Farbenreaktion auf Phosphorsäure für Pflanzenuntersuchungen einzuführen. Er bringt Schnitte von frischem oder Alkohol-Material unter Benutzung von mit Platinspitzen versehenen Pinzetten in eine Lösung von molybdänsaurem Ammoniak, wäscht dann wiederholt mit neutralem, oder besser mit durch Salpetersäure angesäuertem destilliertem Wasser aus und überträgt schließlich in Zinnchlorür. Bei Anwesenheit von Phosphor entsteht dann eine dunkelblaue bis graue Färbung, die nach Ansicht POLLACCIS auf der Bildung von Molybdänsesquioxyd (Mo_2O_3) beruht. Bei Geweben, die sehr reich an Phosphor sind, muß eine verdünnte Lösung von Zinnchlorür angewendet werden. — Die so erhaltenen Präparate sollen ihre Färbung in Glyzerin oder auch in Wasser sehr gut behalten, während bei den nach der Methode von LILIENFELD und MONTI dargestellten Präparaten eine Konservierung in Glyzerin nicht möglich ist. Außerdem soll POLLACCIS Reaktion empfindlicher sein. Man könne mit ihr beweisen, daß in den reproduktionsfähigen Organen und hier wieder in den Chromatinkörnern des Kerns der Hauptsitz der Phosphorsäure sei.

Auf eine Bemerkung FIORIS hin, daß das POLLACCIsche Reagens (Molybdänsäure und Zinnchlorür) in gerbstoffhaltigen Zellen, speziell in dem „sistema albuminosa tannico“ nicht zu verwenden sei, führt POLLACCI in einer späteren Mitteilung den Beweis, daß es sich in diesem Falle um vollkommenen Mangel an Phosphor in den betreffenden Zellpartien gehandelt habe.

Als eine Art Abschluß kann man nach dieser Richtung seine Besprechung der Methoden des mikrochemischen Nachweises von Phosphor in Pflanzengeweben ansehen.

Daß es an Gegnern nicht gefehlt hat, ist selbstverständlich, nachdem beispielsweise Xanthoproteïnsäure mit Zinnchlorür allein in ähnlicher Weise reagiert wie Phosphorsäure. Auch sollen sich Lecithin- und Nukleïnphosphor der Reaktion entziehen. POLLACCI hält gegen alle Einwände seine Probe aufrecht. Er gibt ein genaues Rezept an, mit dem man besonders günstige Resultate erzielt, weist auf die Wichtigkeit gründlichen Auswaschens nach Einwirkung des Reagens hin, verwirft den Einwand von der Blaufärbung der Xanthoproteïnsäure mit Zinnchlorür auf Grund neuerlicher Untersuchungen,

redet der Verwendung des Zinnchlorür das Wort, — „man kann es nicht nur, soll es beibehalten, da dadurch die Empfindlichkeit der Reaktion ganz außerordentlich gesteigert werde“ — kurz: POLLACCIS Reaktion ist gut und bleibt verwendbar, solange sich keine neuen Gegner finden; sie lautet: Molybdänreagens, dann Waschen in salpetersaurem Wasser und darauf Behandlung mit Zinnchlorür.

Auf einem ähnlichen Prinzipe beruht MAC CALLUMS Blaugrünfärbung der phosphorhaltigen Zellen. Nach seinem Vorschlage wird der Phosphor aus in Alkohol gehärtetem Material mit salpetersaurem Molybdänammon gefällt und in einprozentiges Phenylhydrazinhydrochlorid übertragen. Die phosphorhaltigen Zellen werden alsdann bläulichgrün. Bei Cyanophyceen und bei Hefezellen wurde so der Phosphor nachgewiesen.

Es scheint nun auffällig, daß IWANOFF nur die in Z. M. angegebenen Reaktionen genau in ihrer Anwendbarkeit für die Pflanzenuntersuchung überprüft hat. Er findet, daß sich beide in ergänzender Art verwenden lassen, indem in Fällen, wo mit dem Molybdat wohl, mit der Magnesiummischung keine Fällung auftritt, auf organische Phosphorverbindungen geschlossen werden kann. Gibt irgendwo Magnesiumsulfat und Chlorammonium weder die schönen Tripelphosphatkristalle, noch elliptische Körner, so sei dies ein Hinweis auf eine Bindung von Phosphor an Eiweiß.

Die Mehrdeutigkeit beider Reaktionen käme bei Pflanzen nicht in Betracht, da die Möglichkeit einer Arsenausfällung für Pflanzen nicht zu fürchten ist, und dort, wo gewisse organische Verbindungen die Molybdänprobe unmöglich machen, die Phosphorsäure durch die Magnesiummischung immer noch nachgewiesen werden könne.

Vorkommen. BELZUNG und POIRAULT weisen Phosphorsäure im ausgepreßten Safte der Angiopteris evecta nach. Die Fällung als Magnesiumammoniumphosphat war wegen der gummiartigen Substanzen kugelförmig; BELZUNG fand in kaktusartigen Euphorbien Calciummalophosphat. ZIMMERMANN hat die Calciumphosphatausscheidungen in lebenden Zellen genauer untersucht. Aus HANSENS und LEITGEBS Untersuchungen über Sphärokristalle hatte sich ergeben, daß die in Alkoholmaterial auftretenden Sphärite häufig aus Calciumphosphat bestehen. In lebenden Pflanzen wurden nur von NOBBE, HÄNLEIN und COUNCLER derartige Sphärite nachgewiesen. ZIMMERMANN hat solche Calciumphosphatsphärite bei einer nicht näher bestimmten Cyperus-Art gefunden. Um einen zentralen organischen Teil bildet sich hier der Sphärit. Der Nachweis gelang mit molybdänsaurem Ammoniak in salpetersaurer Lösung, durch Lösung in 5prozentiger Essigsäure und durch Erzeugung von Magnesiumammoniumphosphat. — Die LILIENFELDsche Reaktion erscheint vermieden. — RE berichtet von

Sphäriten bei Agave americana, die Calcium und Phosphor mit organischer Substanz enthalten.

Heinricher findet, daß beiden Arten von Lathraea, die er untersuchte, das reichliche Vorkommen von Phosphorverbindungen gemeinsam sei, die in Alkoholmaterial in der Form kugeliger Ausscheidungen von wechselnder Größe ausfallen. Sie sind im wesentlichen lokalisiert im unteren Teile des Tracheïdenkopfes. Die Ausscheidungen sind organischer Natur, da sie beim Glühen einen kohligen, kugelförmigen Rückstand lassen. Magnesium fehlt ihnen wahrscheinlich und Calcium sicher, der Nachweis erfolgte nach Z. M.; für die Molybdänprobe wurde erwärmt. Auch Molisch verwendete bloß diese Methoden des Phosphorsäure-Nachweises. Nach seinen Befunden ist der Phosphor in Milchsäften in organischer Bindung vorhanden.

Färbung der Calciumphosphatsphärite in Pflanzen. Bringt man Calciumphosphatsphärite in Farbstofflösungen, so speichern die im Inneren eingeschlossenen Schleimkerne nach H. Fischer den Farbstoff.

Arsen As.

Indem ich auf den Nachweis von Arsen und Arsensäure in H. Behrens' A. z. m. A. verweise, mache ich noch auf die physiologische Art des Arsennachweises aufmerksam, die Plato und Guth mit Penicillium brevicaule bei 22 bis 30° C. gelang. Das Penicillium wuchs auf Agarplatten mit einem Zusatz von einem Teil Arsen zu 50000 Teilen Agar. Bei seiner Entwicklung erzeugte der Pilz einen intensiven Geruch nach Knoblauch, der auf das vorhandene Arsen deutet.

Kohlenstoff - C.

Ein ausgezeichnetes Reagens auf reinen Kohlenstoff verdanken wir Wiesner, dem es gelungen ist, mit Hilfe der von Crüger in die Mikrochemie eingeführten „Chrom-Schwefelsäure“ die verschiedenen Formen der Kohle voneinander zu unterscheiden und das Lungenpigment als Rußkohle zu erkennen.

Kohlensäure CO_2.

Nestler weist mit der bekannten mikrochemischen Methode, Zusatz von Salzsäure, in dem Sekretwasser-Rückstand von Phaseolusblättern kohlensaures Kali nach.

Rechinger konnte das Vorkommen von Calciumkarbonat in Gesneriaceenhaaren dartun.

Kieselsäure SiO_2 und Silikate.

Glühen, Schwefelsäurebehandlung, Miliarakis Verfahren, Lösung in Flußsäure und Bildung von Kieselfluornatriumkristallen stehen

heute noch als vorzügliche Methoden zum Kieselsäurenachweis im Gebrauche. Ob auch die Bildung von Rubidiumsilicomolybdat sich für botanische Zwecke eignen wird, muß erst die Zukunft lehren.

In neuerer Zeit hat sich Küster eingehend mit dem Nachweise der Kieselsäure in der Pflanze beschäftigt und gefunden, daß Kieselkörper und verkieselte Membranen durch Aufhellung mit Benzol, Chloralhydrat und Phenol nachgewiesen werden können. Besonders zuverlässig ist der entstehende rötliche oder bläuliche Glanz. Am geeignetsten erwies sich bei dieser Probe zunächst das Phenol. Bei seinen späteren Studien über Chrysobalaneen zog er auch das Verhalten der Kieselablagerungen dieser Pflanzen gegen Farbstoffe mit in Betracht und fand, daß gewisse Formen sich analog wie Tabaschir verhalten. Sie speichern Gentianaviolett und Methylenblau. Küster erwähnt übrigens auch eine interessante Beobachtung Ambronns über das Braunwerden von Tabaschir in blauen Jodlösungen von Chloroform oder Schwefelkohlenstoff. Chrysobalaneenkieselkörper zeigen diese Reaktion nicht.

Es erübrigt nur noch über bekannt gewordene neue Vorkommen zu referieren. Zimmermann teilt einen Fund in den Blättern von Cyperus alternifolius mit. Hier finden sich eigenartige, meist halbkugelig in den Innenraum der Zellen hineinragende Verdickungen, bei deren näherer Untersuchung sich ergab, daß sie mit Kieselsäure durchsetzte Membranverdickungen darstellen, bei denen die Kieselsäure in einem Zellulosegerüste sitzt, was mit Flußsäure nachgewiesen werden kann. Rechinger erwähnt Kieselsäure in den Haaren der Gesneriaceen. Beachtenswert ist auch der Befund Bargaglis von intrazellulären Kieselsäureabsonderungen.

Kalium K.

Die gebräuchliche Reaktion mittels Platinchlorid hat sich auch bei den neueren Untersuchungen Czapeks bewährt. Bei Wurzelausscheidungen ist es nach Czapek am besten, die zu prüfende Flüssigkeit langsam verdunsten zu lassen, dann einen Tropfen des Reagens zuzusetzen und das Deckglas aufzulegen. Auch Nestler bediente sich dieser Reaktion. Nach seinen Beobachtungen erscheint es zweifellos, daß im Sekretwasser der Bohnenblätter kohlensaures Kali vorhanden ist, Kaliumnitrat beobachtete Monteverde. Ebenso gelang ihm die Erzeugung von Chlorkaliumkristallen. Ähnlich erzielte Belzung tafel- und stäbchenförmige Kaliumnitratkristalle bei Cucurbita Pepo intrazellulär in Glyzerinpräparaten. Im übrigen wirkt Salpeter in größerer Konzentration als Gift. Nach Lidforss verhindert er die Pollenschlauchbildung. Man vergleiche das Kapitel „Giftwirkung der neutralen Salze der Alkalimetalle in O. Loews ‚Ein natürliches System der Giftwirkungen'“, p. 113—116. Beachtenswert erscheint auch die Beobachtung Retgers, wonach sich Kalisalpeter aus

Nigrosin-haltigen Lösungen in violetten, stark dichroitischen Säulen abscheidet, während Kaliumsulfat mit Bismarckbraun faserige, stark dichroitische Kristalle liefert.

Natrium Na.

Mit dem Nachweise in der Pflanze hat man sich seit 1892 meines Wissens nicht beschäftigt, es bleiben daher die Proben mit Uranylmagnesiumacetat und Uranylacetat vorläufig die verwendbarsten. Nach H. Behrens werden von ihnen noch 0·8 beziehungsweise 0·4 Mikromilligramm Natrium angezeigt.

Ammonium NH_4.

Bezüglich der Reaktionen vgl. Z. M., p. 55—56.

Nach Retgers Untersuchungen nimmt Ammoniumnitrat Indulin und Nigrosin auf, was für die Erkennung desselben unter andern Kristallen von Bedeutung sein kann. — Vorkommen. Debski glaubt nach dem Verhalten des Zellsaftes der Marantaceen gegen Weinsäure auf NH_4 oder eines seiner Alkyl-Substitutionsprodukte als die zu der vermutlich vorhandenen Äpfelsäure gehörige Base schließen zu sollen.

Calcium Ca.

Die gebräuchlichsten Fällungsmethoden der Mikrochemie zum Nachweise des Calciums sind die, welche zur Bildung von Calciumsulfat, Calciumtartrat, Kalium-Calciumferrocyanid und Calciumoxalat führen. Davon erscheint die Schwefelsäureprobe am geeignetsten auch für mikrochemisch-botanische Zwecke. Zum Nachweise des Calciums in Proteïnkörnern benutzt Brien außer Schwefelsäure eine Lösung von oxalsaurem Ammon und Chlorammonium.

Molisch wies mit Schwefelsäure geradezu Unmassen von Calcium im Milchsafte von Euphorbia Lathyris nach. Bei anderen Milchsäften war ein starkes Schwanken bezüglich der Calciummengen zu bemerken.

Das Calcium kommt in der Pflanze als Oxalat, Karbonat, Sulfat, Tartrat usw. vor. Ich werde die seit 1892 bekannt gewordenen Vorkommen von Calciumverbindungen in der Pflanze in der Reihenfolge von Z. M. besprechen.

a) Calciumoxalat $(COO)_2Ca$. — Buscalioni hat die Calciumoxalatdrusen einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Den Körper ihres inneren Hohlraumes hält er für harzartig. Mit dem Reagens von Unverdorben-Franchimont kann man einen starken grünblauen Niederschlag erzeugen. dessen Analyse einen Pektinstoff oder einen verwandten Körper, jedenfalls aber nicht Oxalsäure anzeigt. Der neue Körper wurde „Corpo mucilaginoso

delle druse" genannt. WITTLIN behandelte ausführlich die Bildung der Kalkoxalattaschen. KRASSER gab die Mittel an, wie man im Aleuron leicht die Calciumoxalatdrusen erkennen könne. Es eignet sich das phosphorsaure Natron dazu wohl am besten. In den sogenannten „Ölplastiden" fand LIDFORSS Calciumoxalatkristalle.

Ein Fall des Vorkommens von gelöstem Calciumoxalat wird von BELZUNG gemeldet. Er fand nämlich bei den Samen von Lupinus albus Calciumoxalat, und zwar wahrscheinlich in loser Bindung mit Oxalsäure und Zitronensäure. Namentlich diese konnte er in großer Menge aus den genannten Samen isolieren. Das Calciumoxalat fällt beim Erhitzen aus dem eingedickten Extrakte der Samen in tetraëdrischen Kristallen aus.

Ich schließe die Aufzählung der Calciumoxalatvorkommen mit dem Hinweise auf WEHMERS Arbeit, in der er die Calciumoxalatnatur vieler Raphiden in Frage stellt und auf die Möglichkeit vom Vorhandensein von Kalkcitratraphiden aufmerksam macht.

b) Calciumkarbonat CO_3Ca. — Bekanntlich erscheint der kohlensaure Kalk gewöhnlich als Membraninkrustation. Fälle dieser Art sind neuerlich bekannt geworden. RECHINGER beschrieb sie bei Haaren der Gesneriaceen und MANGIN bei den Fruchthyphen und Sporangien der Mucorineen. YENDO gab zur Entkalkung des Korallineenthallus die PERÉNYIsche Flüssigkeit an.

c) Calciumsulfat SO_4Ca. — Nach HANSEN kommt bei Angiopteris Gips in Form von großen Kristallen des monoklinen Systems vor. Schon MONTEVERDE hatte die Richtigkeit dieser Angaben bestritten und die betreffenden Kristalle für Calciumoxalat erklärt. Auch BELZUNG und POIRAULT kamen zu diesem Resultate.

BELZUNG beobachtete übrigens die Bildung von Gipskristallen gelegentlich seiner Studien über den Asparaginnachweis, wenn er die Schnitte in vollkommen reines Glyzerin gab. Die entstandenen Kristalle sind büschel- oder pinselartig.

d) Calciumphosphat $(PO_2)_2(O_2Ca)_3$? — RE erwähnt Sphärite bei Agave americana, die Kalk, Phosphor und organische Substanzen enthalten. ZIMMERMANN beobachtete Calciumphosphatausscheidungen in lebenden Zellen. Zur Prüfung auf Calcium wurde Schwefelsäure verwendet. Ließ man vor Zusatz der Schwefelsäure 5prozentige Essigsäure auf die Präparate einwirken, so entstanden weniger Gipsnadeln. Überdies wurde 10prozentiges Ammoniumoxalat mit 10prozentiger Essigsäure zur Reaktion verwendet. Werden die Schnitte in dieser Lösung erhitzt, so werden die Sphärokristalle in Klumpen winziger Kristalle verwandelt, die in 5prozentiger Essigsäure gar nicht, in Salzsäure dagegen sehr leicht löslich sind. In einer Lösung von 0·5prozentigem Ammoniumoxalat und einprozentiger Essigsäure trat auch ohne Erwärmung die gleiche Erscheinung nach Verlauf einer halben Stunde auf.

Bezüglich der Möglichkeit der Farbstoffaufnahme durch die von den Sphäriten eingeschlossenen Schleimkerne vergleiche das Kapitel „Phosphorsäure" und H. FISCHERS einschlägige Arbeit.

e) Calciumpektat. MANGIN und WILLE äußerten die Ansicht, daß die Mittellamelle aus Calciumpektat bestehe. Jüngst hat DEVAUX Beob-

achtungen gemacht, die ihn allerdings sehr zur Negierung dieser MANGIN-WILLEschen Ansicht aufmuntern konnten. (Man vergleiche das Kapitel „Pektinstoffe“, Abschnitt „Mittellamelle“.)

f) Calciummalat und -malophosphat. — BELZUNG und POIRAULT fanden bei Angiopteris evecta neutralen äpfelsauren Kalk. Bei zweimonatlichem Stehen des Saftes entstanden Sphärite von Calcium mit einer noch unbekannten Säure. BELZUNG wies Calciummalo- und Calciumphosphatsphärite in kaktusartigen Euphorbien nach. Über die Unterscheidung beider vgl. das Kapitel „Apfelsäure“.

g) Calciumcitrat. — WEHMER beobachtete bei zwei Pilzen Bildung von Calciumcitratraphiden und konnte Calciumcitrat auch künstlich zur Raphidenbildung veranlassen. Er vermutet deshalb, daß das, was man als Calciumoxalatraphiden beschrieben hat, sich oft als Raphiden der Zitronensäure herausstellen dürfte. Vgl. diesbezüglich das Kapitel „Zitronensäure“.

Nach alledem erscheint das Ca als jenes Element, das mit den meisten Säuren sich verbindet, die man als gewöhnlich für Pflanzen beschreibt.

Magnesium Mg.

Die bekannteste Reaktion auf Magnesium ist die, welche zur Bildung des Magnesiumammoniumphosphates führt. Sie hat sich auch anläßlich meiner Untersuchungen über das Magnesium in seinen Beziehungen zur Pflanze[1] heute noch als die geeignetste herausgestellt. Zu kontrollierenden Versuchen können Verwendung finden:

1) Arsenverbindungen bei Gegenwart von Ammoniak.
2) Kaliumpyroantimoniat.
3) Seignettesalz mit Ammoniak.
4) Ferrocyankalium und Ammoniak.
5) Ammoniumoxalat und Essigsäure.
6) Ammoniumoxalat allein.
7) Oxalsäure und Zinksulfat.
8) Kaliumoxalat.
9) Schwefelsäure mit und ohne Wasser.

Auszuscheiden sind die Reaktionen mit Natriumkarbonat allein, bei Gegenwart von Calcium, dasselbe bei Gegenwart von Phosphor, Oxal- und Essig-, Fluorwasserstoffsäure, Ammoniumfluosilikat und Uranylacetat.

Sind die für die Bildung von Magnesiumammoniumphosphat notwendigen Komponenten Magnesium und Phosphor in einem pflanz-

---

[1]) Zur Orientierung über die Kristallform und deren optischen Charakter vergleiche man meine Untersuchungen über diesen Gegenstand.

lichen Objekte frei vorhanden, so kann man beide mit einem Schlage auch durch Ammoniak allein nachweisen: die Ammoniakreaktion. Brien wies auch das Magnesium der Proteïnkörner mit Natriumphosphat und ammoniakalische Chlorammoniumlösung nach.

Vorkommen. Molisch führt als Beispiele starker Mg-Anhäufung an die Milchsäfte von Ficus elastica, Galactodendron utile und Euphorbia mammilaris. Eschbaum berichtet von Magnesiumammoniumphosphatkristallen in Agarabkochungen und führt deren Bildung auf Bakterien und Pilze zurück. Nach meinen Versuchen mit Gelatine glaube ich, ist der Gedanke zu erwägen, ob nicht die Austrocknung des Agars allein schon die drei zum Tripelsalz notwendigen Komponenten zur Bildung des Magnesiumammoniumphosphates zu veranlassen vermag.

Eisen Fe.

Wie bekannt, haben Weiss und Wiesner Rhodankalium als Reagens auf Eisen in Form von unlöslichen Oxyd- oder Oxydulverbindungen bei höheren Gewächsen angegeben; für Eisen bei Algen in Form des Oxydhydrats war 10 Prozent Ferrocyankalium, dem etwas Salzsäure zugesetzt war, von Hanstein als sehr zweckmäßig erkannt worden.

Molisch hat nun diese Reaktionen nachgeprüft und gefunden, daß auch für höhere Pflanzen Ferrocyankalium zum Nachweise am geeignetsten sei besonders wegen der lokalisierten Fällung von Berlinerblau. Er empfiehlt eine 2prozentige Blutlaugensalzlösung und 10prozentige Salzsäure (bei 15° C 4·9 Gewichtsteile HCl).

Um die Lagerung des Eisens in toto festzustellen, wurden die Objekte, Samen etc. je nach Bedarf 1 bis 24 Stunden in verdünnter Blutlaugensalzlösung liegen gelassen. Das Kaliumferrocyanid zeigt Oxydsalze an. Bekommt man daher keine Reaktion mit diesem Reagens, so kann noch das Eisen als Eisenoxydulverbindung vorliegen. Eine 2prozentige Ferricyankaliumlösung und 10 prozentige Salzsäure gibt darüber Aufschluß. Bekanntlich entsteht ein Niederschlag von Turnbullsblau innerhalb weniger Minuten.

Man hat es daher in der Hand, sich jederzeit zu überzeugen, ob Eisen vorliegt

1) als Oxyd- (gelbes Blutlaugensalz),
2) als Oxydul- (rotes Blutlaugensalz),

3) als Oxyd-Oxydulform (gleichzeitige Behandlung einer Anzahl gleicher Objekte mit beiden Lösungen).

Der große Vorteil liegt in der lokalisierten Fällung des Berliner Blaus, wodurch über die Verteilung direkt nachweisbaren Eisens in der Pflanze sichere Schlüsse gezogen werden können.

War mit den Reagentien und den mikroskopischen Schnitten kein Resultat zu erhalten, so wurde natürlich noch die Asche auf Eisen untersucht.

Bei seinen Mitteilungen über das Eisen erwähnt Molisch auch eine neue Reaktion auf das von ihm „maskiert" genannte Eisen. Läßt man nämlich Objekte, in denen mit den oben angeführten Reagentien das Eisen nicht nachgewiesen werden kann, Tage und Wochen oder Monate in einer gesättigten „reinsten" Kalilauge liegen, so färben sie sich nachher, mit Wasser ausgewaschen, mit den verwendeten Reagentien sehr deutlich und zeigen lokalisierte Farbenverteilung. Besonders auffallend war, daß Spirogyren, Holzfasern etc., die, verascht, nicht eine Spur der Reaktion erkennen ließen, nach jenem Kalilaugen-Verfahren eine ganz ausgezeichnete Färbung zeigten.

A. Meyer wies in seinem Referate darauf hin, daß reinste Baumwolle die selbst in „reinster" Kalilauge des Handels vorhandenen Eisenspuren speichert und so nachweisbar macht.

Molisch überprüfte nochmals seine Probe. Die neuen Experimente mit Fichtenholzspänen und Baumwolle ergaben die gleichen Resultate, woraus sich für den 3. Abschnitt des Molischschen Eisenbüchleins der Schluß ergibt:

„Daß gewisse Zellen oder Teile derselben, z. B. die Globoide der Aleuronkörner usw. Eisen der Kalilauge zu entziehen und zu speichern vermögen, über die Verteilung des Eisens in der Pflanze selbst lehren sie (die Angaben des 3. Abschnittes nämlich) nichts."

Und aus dem Reaktionsregister scheidet durch die Berichtigung von Molisch die Reaktion auf das „maskierte" Eisen aus.

Meyer und Molisch hielten also die käufliche „reinste" Kalilauge nicht für rein. Dagegen wendet sich Müller und behauptet, die Kalilauge sei wohl eisenfrei, durch das Stehen in den Glasgefäßen nehme sie aber Eisen aus dem Glase auf. Beweis: in Nichtglasgefäßen bleibt die Lauge rein. Auch werde Eisen als Berlinerblau aus Blutlaugensalz durch Salzsäure abgespalten und mag so zu den Schnitten dazugekommen sein, denn selbst sehr stark verdünnte Säuren scheiden aus Blutlaugensalz allein Berlinerblau ab. Müllers Aus-

führungen berühren somit bloß das „Woher“ des „maskierten“ Eisens und können als Bestätigung des obigen Zitates angesehen werden. Wie vorsichtig man bei einem Urteil über die Verteilung des Eisens sein muß, haben die Ausführungen bisher erwiesen. Darum wird man Petits Bemerkungen vom Eisen im Nuklein um so vorsichtiger aufnehmen müssen, als er auf Grund von makrochemischen Befunden allein zu dieser Ansicht gelangte.

Macallum will im Zentralkörper der Cyanophyceen, freilich nicht stets streng lokalisiert, das Eisen nachgewiesen haben: Alkoholmaterial wird in Glyzerin und Ammoniumsulfat bei 60° gehalten. Der Zentralkörper wird dunkelgrün. Schneller kommt man zum Ziel, wenn man Alkohol und Schwefelsäure, Ferrocyankalium und 0·5prozentige Salzsäure oder 0·5prozentiges Hämatoxylin verwendet. Doppelfärbungen mit Umwandlung nach Preußisch Blau und Färbung mit Pikrokarmin lassen auch die Cyanophycinkörnchen hervortreten. — Welche von diesen Reaktionen als echte Eisenreaktionen angesehen werden können, ist eigentlich schon durch die Wiedergabe der Molischschen Untersuchungen gesagt.

Eng an die Molisch-Meyerschen Befunde von der Eisenspeicherung seitens pflanzlicher Membranen schließen Devauxs Untersuchungen über Pektinstoffe an, wonach letztere die Eigentümlichkeit besitzen das Eisen zu speichern; Holzzellen speichern Eisen nur nach Behandlung mit Eau de Javelle. Membranen speichern Eisen noch aus Verdünnungen von 1 : 10000000. Nach später angegebenen Rezepten färbte Devaux Cellulose mit Eisenchlorid und Ferrocyankali blau, mit Kupferacetat und Ferrocyankali rot und mit Bleiacetat und Kaliumbichromat gelb, ebenso mit Eisenchlorid und Ammoniumsulfat.

Mangan Mn.

Nach H. Behrens sind die geeignetsten mikrochemischen Reaktionen auf Mangan seine Fällungen als Oxalat, Ammoniummanganophosphat und Superoxyd. Besonders die zweite kann man nun, wie Gössl gezeigt hat, bei geeigneter Versuchsanstellung dazu benutzen, Mangan gleichzeitig neben Co, Ni, Fe und Mg nachzuweisen. Davon kommt bei der Pflanze besonders das Mg in Betracht. Man braucht nur die erzeugten $MnNH_4PO_4 + 6H_2O$-Kristalle mit $\frac{n}{10}$ $KMnO_4$ zu behandeln, wobei sie sich braun färben. Die Fällung geschah in mikroskopischen Schnitten und aus Lösungen. Durch diese Gösslsche Probe erscheint besonders für Untersuchungen an Pflanzen die Fällung als Manganammoniumphosphat als derzeit beste mikrochemisch-botanische Reaktion auf Mangan.

Alle übrigen Arbeiten über diesen Stoff, die in den letzten Jahren erschienen sind, haben sich bloß mit dem ernährungs-physiologischen, speziell stimulatorischen Werte dieses interessanten Elementes der Eisengruppe beschäftigt oder sich der Giftigkeit desselben gewidmet.

Von mikrochemischem Interesse ist das starke Anschwellen der Scheide der Eisenbakterien bei Manganfütterung, wie es Molisch nachgewiesen hat, und der Gallertschichte von Anthophysa vegetans, die unter denselben Bedingungen von Adler gezogen wurde.

Tonerde.

Radlkofer entdeckte kieselsäuremassenähnliche Körper bei Symplocos-Arten. Man konnte sie mit Alizarin und Brasilin von den gleichzeitig vorhandenen Fettkörpern differenzieren, da sie sich intensiv färbten. Nach der Aschenanalyse hat man es hier mit Tonerde zu tun.

II. Abschnitt.

Organische Verbindungen
[ausschließlich der Zellwandstoffe].

A. Fettreihe.

1. Alkohole.

Bekanntlich hat Borodin den Dulcit in der Weise nachgewiesen, daß er auf die zu untersuchenden Objekte etwas Äthylalkohol gab, den er nach Bedecken mit dem Deckgläschen eindampfen ließ. Der vorhandene Dulcit kristallisiert so in großen prismatischen oder unregelmäßigen Kristallen aus. Monteverde hat dieselbe Methode sowohl für Dulcit wie für Mannit verwendet und die auskristallisierten Substanzen mit Borodins Methode der gesättigten Lösungen überprüft.

2. Aliphatische Karbonsäuren.

Ameisensäure. — Während Behrens zum Nachweise der Ameisensäure Merkuronitrat verwendet, benutzt Czapek Sublimatlösung; er erwärmt auf 70 bis 80°, worauf sich ein weißer Niederschlag von Kalomel bildet, der in Salzsäure unlöslich ist. Um nun Ameisensäure in den Zellen selbst nachzuweisen, wurden Wurzelstücke in konzentrierter Sublimatlösung, die mit Wasser auf das fünf- bis zehnfache verdünnt war, im Wasserbade eine bis 2 Stunden lang erhitzt. Nach den notwendigen Reinigungen wird in einprozentiger Kalilauge gelinde erwärmt. In den formiathaltigen Teilen

tritt sofort Schwärzung auf (Niederschlag im Protoplasma, nicht im Zellsaft und Zellkern).

Oxalsäure. — Nachweis. Tritt nach BEHRENS der Nachweis der Oxalsäure als Calcium- gegenüber dem als Strontiumoxalat zurück, und wird er nur bei sehr verdünnten Lösungen empfohlen, die eine Einengung nicht vertragen, oder die man nicht einengen will, so spielt er in der botanischen Mikrochemie eine desto größere Rolle. GIESSLER hat ihn daher auch verwendet, um die Verbreitung der Oxalsäure besonders in löslicher Form oder als Bioxalat im Pflanzenkörper festzustellen. Die Objekte wurden unter Anwendung der Luftpumpe mit einer Lösung von einem Teil Calciumchlorid in drei bis vier Teilen Wasser injiziert, oder es wurde das Pflanzenmaterial direkt in eine kochende Chlorcalciumlösung geworfen. Nach dem Auswaschen in Wasser war die Oxalsäure als Calciumoxalat in Form einer feinkörnigen kristallinischen Masse oder in der von Sphäriten zu sehen. Leider beeinträchtigten Gerbstoffe, die in stärkerer Konzentration als grauschwärzliche oder bräunliche Massen niedergeschlagen werden, sehr stark die Reaktion.

Vorkommen. Nachdem ich bereits bei der Besprechung des Calciumoxalats der Arbeiten von BUSCALIONI, BELZUNG und POIRAULT, KRASSER, WITTLIN, LIDFORSS und BELZUNG gedacht habe, möchte ich hier noch auf die letzte genauer eingehen. Es gelang BELZUNG Calciumoxalat im Zustande der Lösung im Samen von Lupinus albus nachzuweisen. Nach seiner Meinung dürfte es da in loser Bindung mit Oxalsäure und Citronensäure vorkommen. Dickt man nämlich unter Erhitzen das wässerige Extrakt ein, so fällt das Calciumoxalat in Form tetraëdrischer Kristalle aus. — WEHMERS Verdacht von der Calciumcitratnatur vieler Raphiden wurde oben schon erwähnt.

Äpfelsäure. — Indem ich kurz auf den Nachweis der Äpfelsäure als Silbermalat oder durch Überführung in Maleïn- und Fumarsäure verweise, gehe ich gleich auf die mir bekannt gewordenen Fälle charakteristischen Vorkommens dieser Säure ein. In kaktusförmigen Euphorbien erkannte BELZUNG die schon mehrfach untersuchten Fällungen durch Alkohol teils als Calciummalophosphat, teils als Calciummalat. Jenes bildet Sphärite, die zunächst amorph erscheinen und später eine radiäre Struktur annehmen, dieses prismatische zu Sphäriten geordnete Kristalle. Beide werden am besten mit 70prozentigem Alkohol erhalten. Die Kristalle konnten auch aus künstlich dargestelltem Calciummalophosphat mit Alkohol erzeugt werden. Durch DEBSKIS Untersuchungen wurde das Vorhandensein von Äpfelsäure in den Blättern und Blattstielen von Marantaceen sehr wahrscheinlich. Vgl. schließlich den Abschnitt über Calciummalat (oben p. 208).

Citronensäure. — Der Nachweis der Citronensäure erfolgt wieder am günstigsten durch Silbernitrat. Das Calciumcitrat hält BEHRENS für mikroskopische Erkennung für völlig wertlos. Wegen seiner Unlöslichkeit in Wasser ist es aber zur Trennung der Citronensäure von flüchtigen Säuren von großer Bedeutung. Dieser Umstand kam nun WEHMER bei seinen Studien der von zwei verschiedenen Hyphomyzeten ausgeschiedenen Calciumcitrate sehr zustatten. Die Pilze wurden in mit Kreide versetzter Zuckerlösung kultiviert. Das Calciumcitrat wurde durch Erwärmen

nachgewiesen, dabei fällt es sofort in Form von Raphiden- und Sphäritähnlichen Körpern aus. WEHMER vermutet daher, daß vielleicht viele der bisher für Oxalatraphiden gehaltenen Kriställchen Kalkcitratraphiden seien. — Mit Oxalsäure zusammen ist die Citronensäure im Lupinensamen von BELZUNG gefunden worden.

Milchsäure. — Die Milchsäure habe ich an den Schluß meiner Ausführungen über nicht flüchtige aliphatische Karbonsäuren gestellt, weil sie stets nur als mikrotechnisch wichtig genannt wird. KRASSER hat ihr deshalb geradezu eine Abhandlung gewidmet. Seither empfahl sie LAGERHEIM mit Jod zum Stärkenachweis und KLEBAHN fand sie bei der Untersuchung von Herbarmaterial von Rostpilzen in Übereinstimmung mit LAGERHEIM vorzüglich geeignet.

3. Aldehyde.

Bei der Frage nach dem Vorhandensein von Aldehyden handelt es sich gewöhnlich darum, quantitativ den Aldehydgehalt der Blätter festzustellen, um Stützen für die BAYERsche Assimilationshypothese zu gewinnen, also um rein physiologisch-chemische Probleme, die somit über den Rahmen dieses Referates hinausgehen. Man vgl. diesbezüglich BOKORNYS „Über Stärkebildung aus Formaldehyd" und REINKEs und BRAUNMÜLLERS „Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes auf den Gehalt grüner Blätter an Aldehyd". POLLACCI bringt neue Angaben betreffend den Nachweis des Formaldehyds in grünen assimilierenden Pflanzenteilen, besonders über die Farbenreaktion mit Codeïn und Schwefelsäure, doch spricht er nicht von ihrer mikrochemischen Verwendbarkeit.

4. Öl.[1]

Unterscheidung von fettem und ätherischem Öle. Bisher war A. MEYERS Methode der Unterscheidung von ätherischen und fetten Ölen wohl zumeist im Gebrauche. Da bei der Aufbewahrung der Objekte im Brutschrank bei 130° das ätherische Öl abdampft, hat man nachher eigentlich bloß die fetten Öle vor sich. Es muß somit als ein Fortschritt betrachtet werden, daß uns MESNARD mit einer Methode bekannt macht, die direkt unter dem Mikroskope die beiden so häufig vorkommenden Formen des Öles zu unterscheiden gestattet. Zu diesem Zwecke nimmt man eine feuchte Kammer mit zwei konzentrischen Ringen und gibt in den inneren Kreis Glyzerin mit Zucker, darauf die Schnitte, in den Hohlring aber rauchende

[1]) Man vergleiche auch BIERMANN, R., „Über Bau- und Entwicklungsgeschichte der Ölzellen und die Ölbildung in ihnen." Inaug.-Diss. Berlin 1898.

Salzsäure. Unter diesen Bedingungen kann man bemerken, daß sich das flüchtige Öl in goldgelbe Tröpfchen zusammenballt, die später verschwinden, während das fette Öl unverändert erscheint. Wie gut diese Methode zu sein scheint, erhellt daraus, daß man bei Orangenblüten mehrere ätherische Öle unterscheiden kann, was theoretisch den Schluß gestattet, daß ihr Geruch ein zusammengesetzter sein muß.

Bei seinen Studien über die Lokalisation der fetten Öle während der Keimung versuchte MESNARD noch eine passende Verbesserung seiner Methode, und zwar mit gutem Erfolge. Nach Belassung der Präparate in Salzsäuredämpfen während 25—30 Stunden, während welcher Zeit das ätherische Öl zerstört wurde, und der Zellinhalt auf einen Tropfen zusammengezogen war, wurden durch 2 Sekunden hindurch Joddämpfe einwirken gelassen. Dadurch tritt Gelbfärbung des fetten Öles ein, wodurch es sehr deutlich und zum Messen geeignet wird. Aus der Größe des Durchmessers wurde die enthaltene Ölmenge berechnet. Es konnte auf diese sinnreiche Weise gezeigt werden, daß sich die erhaltenen Zahlen nach Tageszeit, Belichtung und Entwicklungszustand ändern.

Danach zeigen also beide Arten von Öl Tropfenbildung in Salzsäuredämpfen, doch das ätherische sofort, das fette erst nach etwa einem Tage, wodurch die Möglichkeit gegeben ist, leicht die beiden Formen zu unterscheiden.

Eine solche Methode erscheint um so wertvoller, als erst in der jüngsten Zeit TSCHIRCH gezeigt hat, daß die Methode, durch Erhitzen des Präparates eine Unterscheidung beider Öle möglich zu machen, nie einwandsfrei ist. Selbst bei 100 bis 110° verflüchtigen sich nicht alle ätherischen Öle. Die höher siedenden Terpene und Polyterpene zum Beispiel, und viele andere Öle verharzen bei der Erhitzung. Auch ist angeblich keines der vorhandenen Reagentien der fetten Öle zur Unterscheidung von Harzbalsam verwertbar.

Ölkörper der Lebermoose. Passend dürften sich hier auch die Methoden zur Unterscheidung der Ölkörper der Lebermoose von den fetten und ätherischen Ölen anschließen. Nach den bekannten Untersuchungen von PFEFFER hat sich besonders v. KÜSTER dem Studium der Ölkörper gewidmet und eine vielfache Übereinstimmung ihrer Reaktionen mit den der fetten und ätherischen Öle gefunden. ANDREWS hat später die mechanische Trennung durch Zentrifugalkraft zu Hilfe genommen, die die Ölkörper infolge einer in ihnen vorhandenen spezifisch schwereren Substanz stets in das zentrifugale Zellenende

schleuderte. Die neuesten diesbezüglichen Angaben rühren von LOHMANN her. Danach sind die Ölkörper

1) Löslich in Petroläther, Äther, Aceton, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Nelkenöl, starkem Alkohol, aber auch verdünntem Alkohol (noch in bis 40prozentigen), Eisessig und Chloralhydratlösung.

2) Kalilauge und Säuren lösen nicht; wohl kann es bei der Einwirkung von Kalilauge geschehen, daß die Ölkörper plötzlich verschwinden, aber eine Verseifung in der Weise, daß erstarrte Seifenmassen sichtbar werden, tritt sogar bei vorhergegangener Kochhitze nicht ein.

3) Durch Osmiumsäure, Alkanna und verschiedene andere Farbstoffe färben sie sich leicht.

Es ist somit die Verseifungsmethode, die sicherste zur Differenzierung der Ölkörper von fetten und ätherischen Ölen.

Auch GARJEANNE hat neuerdings eine interessante Arbeit über die Ölkörper der Jungermanniaceen veröffentlicht, die sich mit Entwicklungsgeschichte, Lage, Bewegungserscheinungen, Vermehrung, Bedeutung und Vorkommen der Ölkörper beschäftigt. Für die entwicklungsgeschichtlichen Studien hat sich eine konzentrierte wässerige Pikrinsäure als zweckmäßig erwiesen. Die Hülle der Ölkörper, auf die auch schon KÜSTER aufmerksam gemacht hat, besteht nach GARJEANNE wahrscheinlich aus gerbsaurem Eiweiß.

F e t t e s Ö l. — Unter den F e t t r e a g e n t i e n spielen, wie bekannt, die Farbstoffe Alkannin und Cyanin eine große Rolle. Nachdem ROSENTHAL die Verwendbarkeit von Sudan III für den Fettnachweis dargetan hatte, bürgerte es sich für diese Zwecke bald ein. Man vergleiche BUSCALIONI, der das Reagens in die botanische Mikrotechnik eingeführt hat, B. FISCHER, HERXHEIMER und KOHL. Dagegen äußert sich LEWINSON abfällig über den Farbstoff ebenso wie über die Osmiumsäure. Er gibt für tierhistologische Zwecke eine Methode an, die in der Einwirkung von MÜLLERscher Flüssigkeit, Kaliumhypermanganat, Oxalsäure und schwefligsaurem Kalium besteht. Zu Kontrastfärbungen sollen besonders Karminlösungen bei Nachbehandlung mit Säurealkohol und gesättigter Pikrinsäure und Einbetten in Kanadabalsam geeignet sein. Dadurch wird das Fett dunkelblau, fast schwarz, die Kerne rot und das Protoplasma gelb. Vielleicht ließe sich mit passenden Änderungen dieses Verfahren auch auf pflanzliche Objekte anwenden. Auch andere Farbstoffe sind noch empfohlen worden: Scharlach R von LAGERHEIM zum Nachweise fremden Fettes in der Schokolade, und von B. FISCHER, Alizarin und Brasilin von

Radlkofer, und Prodigiosin von Rosenberg. Kohl endlich gibt an, daß mittels Dimethylamidazobenzol Fett gelb gefärbt wird.

Es ist interessant, zu hören, welches Ergebnis eine kritische Untersuchung dieser zahlreichen Methoden des Ölnachweises gezeitigt hat. Eine solche danken wir Hartwich und Uhlmann, die den Beweis erbrachten, daß alle hinter der Fettverseifungsmethode von Molisch zurückbleiben, da mit ihr nicht nur das Öl an und für sich, sondern sogar die Natur des fetten Öles unter dem Mikroskope festgestellt werden kann, wenn man nämlich Kristallform und Zeitdauer der Kristallisation bei der Beurteilung zu Hilfe nimmt.

Bezüglich der Kristallbildung in Öltropfen sei auch auf Bertrand und Poirault verwiesen, die in Glyzerineinschluß in Öltropfen Kristalle entstehen sahen, welche Fett oder Cholesterin sein mochten, und auf Kohl, der bei Behandlung von Schnitten durch die Blütenblätter von Silphium perfoliatum, Calendula offic. und Gazanea splendens mit alkoholischer Kalilauge Phytosterinsphärite erhielt. Man bekommt sie auch bei Behandlung granaführender Leukoplasten aus der Epidermis der Agave americana oder dem Stengelparenchym von Equisetum arvense.

Lösung. Bekanntlich (Z. M. p. 87) erscheint nach genaueren Untersuchungen über die Löslichkeitsverhältnisse von Ölen auch der Eisessig als vorzügliches Lösungsmittel. Davis nutzte nun diese Erfahrung mit bei Verwendung von Chromessigsäure als Fixierungsmittel fett- und ölreicher Zellen aus, denn bei Anwendung dieser Säure erhalte man die Zellen möglichst frei von Fett und Öl, vgl. diesbezüglich auch Lohmann l. c.

5. Wachs.

Wie bekannt, bezeichnet man mit Wachs gewöhnlich die Substanz, die bei zahlreichen Gewächsen alle oberirdischen Teile überzieht und ihnen einen eigenartigen hell-blaugrünen Schimmer verleiht.

Mit der von Wiesner eingehender untersuchten Substanz stimmt nun eine von Möbius im Inneren der Zellen gefundene im wesentlichen überein, so daß man heute auch von einer „Wachsausscheidung im Inneren der Zellen“ reden kann. Das von Möbius entdeckte Wachs fließt in heißem Wasser zusammen, löst sich in kochendem Alkohol und Terpentinöl, wird von Kalilauge, konzentrierten Mineralsäuren und kaltem Alkohol angegriffen und von Jod gelb gefärbt.

Farbstoffe, z. B. Fuchsin, speichert es. Diese Farbstoffspeicherung wird für das gewöhnliche Wachs und Sudan III von BUSCALIONI bestätigt. —

Die klebrige Substanz der Pollinien bei Asklepiadaceen soll nach DOP Wachs sein, sie färbt sich auch mit Sudan III.

6. Kohlehydrate.

Allgemeiner Nachweis. Über den Bedeutungswandel, den MOLISCHS beide Zuckerproben schon in den ersten vier Jahren durchgemacht hatten, berichtet bereits ZIMMERMANN. Es hat sich nun eine ganze Literatur über diese beiden Proben entwickelt, die in jüngster Zeit zusammenfassend von B. REINBOLD unter dem Titel „Über die MOLISCH-UDRÁNSKYsche α-Naphtol-Schwefelsäure-Reaktion" behandelt worden sind.

Glykose $C_6H_{12}O_6$. Bereits FISCHERS Arbeit „Beiträge zur Physiologie der Holzgewächse" hat den großen Wert der A. MEYERschen mikrochemischen Reaktion auf Glykose zur Genüge gezeigt. Wie sehr sich die Fälle ihrer Anwendbarkeit vermehren lassen, geht aus HOFFMEISTERS Versuchen über den Nachweis von Rohrzucker hervor. Es gelingt ihm damit der Nachweis von Rohr- und Traubenzucker als auch der Nachweis von beiden nebeneinander.

Andere Fälle der Verwendung von FEHLINGS Lösung vgl. bei KNUTH „Über den Nachweis von Nektarien auf chemischem Wege", MOLISCH „Milchsaft und Schleimsaft", IKEDA „Studies in the physiological functions etc.".

Daß endlich die Glykose auch bei gewissen Reaktionen hemmend auftritt, beweist der Ausfall der Leptominprobe nach den Mitteilungen von HUNGER.

RIEGLER empfiehlt oxalsaures Phenylhydrazin als Glykosereagens.

Rohrzucker $C_{12}H_{22}O_{11}$. Wesentlich für den Nachweis der Saccharose war bisher gerade der negative Ausfall der TROMMERschen Probe. Es ist aber schon früher betont worden, daß wegen der starken Alkaleszenz beim längeren Kochen mit der FEHLINGschen Lösung sich Invertzucker bildet und dadurch das Reagens bei Untersuchungen, wo es auf die Beantwortung der Frage, ob Saccharose oder gar ob sie neben Glykose vorkommt, vollkommen unbrauchbar wird. Auch SACHS' Probe besitzt erhebliche Mißstände.

Die Möglichkeit, Saccharose durch Invertineinwirkung in Invertzucker umwandeln zu können, hat nun CZAPEK zum mikrochemischen Nachweise dieses Stoffes ausgenutzt und auf seine Anregung HOFFMEISTER in weitgehendstem Sinne verwertet. In seiner Arbeit „Über den mikrochemischen Nachweis von Rohrzucker in pflanzlichen Geweben" kommt er zu dem Schlusse, daß sich CZAPEKS Methode des Rohrzuckernachweises in der Tat allgemein verwenden lasse. HOFFMEISTER verfährt folgendermaßen: Auf frische, etwa 3—4 Zelllagen dicke Schnitte wird konzentrierte Invertinlösung gebracht. Nach zwei bis drei Stunden ist die Enzymwirkung beendet. Nun bringt man das Präparat in A. MEYERS Kupfersulfat-Seignettesalz-Natronlauge und erhitzt zum Sieden. Durch Vergleichung der Kupferoxydulbildung vor und nach der Invertierung kann man Rohr- neben Traubenzucker nachweisen. Kontrollversuche mit Helianthusmark lehrten, daß sich auf diese Weise noch 0·01prozentiger Rohrzucker nachweisen ließ.

Für den Nachweis von Rohr- neben Traubenzucker in glukosereichen Geweben wurden die Präparate in siedendes MEYERsches Reagens gebracht, nach einer bis 2 Minuten in schwacher Weinsäurelösung abgespült und auf dem Objektträger in einen Tropfen Magnesiumchloridlösung gebracht, worin der Kupferoxydul-Niederschlag sofort verschwindet. Das Magnesiumchlorid wurde mit weinsäurehaltigem Wasser ausgewaschen und nachher die Invertinprobe gemacht. So konnte bei Apfel, Birne, Hagebutte, Johannisbrot, Möhre und Petersilienwurzel Saccharose neben Glykose nachgewiesen werden.

Daß der Rohrzucker auch in den Knollen des nordamerikanischen Josopyrum vorkommt und vornehmlich zur Winterszeit angetroffen wird, hat MAC DOUGAL mit der von KRAUS 1876 angegebenen Methode nachgewiesen. Er verwendete zum Einlegen der Schnitte starken, mindestens 70prozentigen Alkohol, wobei er zahlreiche Körnchen erzielte. Es wäre nicht uninteressant, die Resultate dieses Forschers nach der neuen Methode zu überprüfen und auf breiter Versuchsbasis die Verbreitung des Rohrzuckers im Pflanzenreiche festzustellen. Eine solche Arbeit erschiene um so dankbarer, als GRÜSS erst jüngst eine Arbeit über „Die Rohrzuckerbildung aus Dextrose in der Zelle" veröffentlicht hat.

Inulin $C_{12}H_{20}O_{10}$. Von GREEN wurde, wie bekannt, Orcin als Reagens auf Inulin empfohlen. MEYER und BEHRENS finden diese Reaktion sehr verwendbar. Als Versuchsobjekte benutzten sie Topinamburstengel. Diese wurden zuerst in alkoholische Orceïnlösung gegeben, der Wirkung starker Salzsäure ausgesetzt und dann auf dem Objektträger erhitzt. Es färbt sich in den oberen Teilen der

Inulin führenden Region nur der Inhalt der Gefäße orangerot, in den unteren Stengelteilen auch das periphere Mark, Markstrahlen und Holzparenchym; bei Helianthus annuus tritt nur Blaurotfärbung ein. Die Sphärite werden orangerot. Die Reaktion glückt bei frischem und bei Alkoholmaterial.

Bezüglich des Vorkommens in den Gefäßen dürfte zu bedenken sein, ob hier nicht durch die Präparationsmethode und den negativen Luftdruck das Inulin in die Gefäße gelangt sein kann, wie man das schon lange vom Milchsafte weiß.

Daß das Wasser bei der Erkennung von Inulinsphäriten eine wesentliche Rolle spielt, ist schon aus Zimmermanns Ausführungen zu ersehen. H. Fischer hält nun die Quellbarkeit der Sphärite in Wasser für sehr charakteristisch. Er hat trotz eifriger Umschau nur noch bei Alkoholmaterial von Cyclamen europaeum in Wasser quellbare Sphärite erhalten. Beim Erwärmen in Wasser oder Zusatz von Alkalien schmelzen sie aber langsam ab. Im polarisierten Lichte verhalten sie sich wie Stärkekörner. Auch gegen Farbstoffe zeigen sie ein ähnliches Verhalten. Man kann sagen, daß sie die im Wasser gelösten Farbstoffe aufzunehmen vermögen, ohne sie speichern zu können. Nicht vermögen in sie einzudringen: Nigrosin, Hessisch Purpur, Diamin-Echtrot und Ammoniak-Karmin.

Glykogen $C_6H_{10}O_5$. Nach den grundlegenden Versuchen Erreras aus dem Jahre 1886 über die Verbreitung des Glykogens und seinen Nachweis, war es wiederholt Gegenstand eingehender Bearbeitungen; man vgl. G. Clautriau, „Etude chimique du glucogène chez les champignons et les levures“ und Ch. M. D. Creighton, „Microscopic researches of the formative property of glycogen“, Arbeiten, die das Glykogen als einen sehr häufigen Bestandteil der Pilz- und Hefezelle erscheinen lassen. Zacharias und Hegler haben auch bei Cyanophyceen Glykogen nachgewiesen. Nach Zacharias' Meinung enthalten die „Zentralkörper“ einen Stoff mit den Reaktionen des Glykogens und Hegler hält es geradezu für das erste wahrnehmbare Assimilationsprodukt der Oszillarien. Sehr verdünnte heiße Jodlösung färbe es mahagonischwarzbraun. — Diese Zunahme der Fundorte von Glykogen macht es nicht unwahrscheinlich, daß man es auch noch bei anderen Pflanzengruppen wird nachweisen können. A. Fischer hat sich Heglers Anschauung angeschlossen. Zur Färbung des Glykogens empfiehlt Fischer Safranin und andere basische Farbstoffe.

Seltene Kohlehydrate. In seiner Arbeit „Über die Kohlen-

hydrate der Monokotyledonen, insbesondere Irisin, Sinistrin und Triticin“ führt KELLER den Nachweis von der Identität von Irisin und Triticin. Endlich hat A. FISCHER als neues Kohlehydrat „Anabänin“ bei Cyanophyceen beschrieben.

Nektarien. Nach KNUTH gelingt der mikrochemische Nachweis von Nektarien, einerseits mit FEHLINGscher Lösung, anderseits mit der von HOPPE-SEYLER als Zuckerreagens vorgeschlagenen Ortho-Nitro-Phenol-Propiol-Säure, die bei Anwesenheit von Traubenzucker einen tiefblauen Niederschlag von Indigo bildet. Doch darf man nicht einzelne Blütenteile, sondern muß ganze Blüten in die Reagentien bringen, um lokalisierte Fällungen zu erzielen. Die Blüten wurden nach 24stündigem Verweilen in den Reagentien in ihnen gekocht und dann in kaltem Wasser ausgewaschen.

7. Stärke.

Allgemeines. Zur allgemeinen Orientierung mögen vor allem A. MEYERS „Untersuchungen über Stärkekörner“ dienen, von welchen namentlich das erste Kapitel zahlreiche wertvolle Beiträge für die uns hier interessierenden Fragen liefert. Daß das Werk an Bedeutung durch die Mängel nicht verliert, welche ROTHERT in seinen kritischen Bemerkungen aufdeckt, ist selbstverständlich. — Ebenso kann auf HANAUSEKS Behandlung der Stärke und das diesbezügliche Kapitel in WIESNERS „Rohstoffen“ verwiesen werden.

Reaktionen. Bisher erscheinen die Jodreagentien als die empfehlenswertesten zum Stärkenachweis, gleichviel ob das Jod in Wasser, Jodkalium, Chloralhydrat u. dgl. gelöst ist. In neuester Zeit ist von LAGERHEIM für Drogenuntersuchungen sehr zweckentsprechend gefunden worden eine Lösung von Jod in sirupdicker Milchsäure; des Jod-Paraffins von HARZ wird später gedacht werden. Bei dem allgemeinen Vertrauen zu Jodpräparaten für diese Zwecke erscheint eine Beobachtung von NĚMEC besonders erwähnenswert. Werden nämlich Wurzeln von Allium Cepa abnorm niedrigen oder abnorm hohen Temperaturen ausgesetzt, so färbt sich ihre Stärke mit Jod nicht, wie gewöhnlich, blau, sondern schwach gelb. Läßt man aber vor dem Jodzusatz eine schwache Mineralsäure auf die Körner einwirken, so tritt normale Jodprobe ein.

Auch die Verkleisterung findet noch immer ergänzend eine zweckmäßige Anwendung. Selbstverständlich wird sie in Schleimzellen ungemein schwer sichtbar. WALLICZEK gelang es, durch Behandlung der Schnitte mit Alkohol und Bleiessig diese Schwierigkeit zu überwinden.

Daß die Ergebnisse der „Mikrochemie“ auf diesem Gebiete auch reichlich praktische Verwertung gefunden haben, beweisen VINASSAS „Mehluntersuchungen“ und die 2. Auflage von SCHIMPERS „Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel“.

Schichtung und Struktur. BINZ empfiehlt zur Unterscheidung wasserreicher und wasserarmer Schichten im Stärkekorne verdünnte Jodjodkaliumlösung, die bei langsamem Zutritt bloß die letzteren färben soll. Bei Pellionia soll man einen grünen zentralen Teil von einem farblosen Rande unterscheiden können. Nach BUSCALIONI ist Chloroform und Chromsäure zur Darstellung besonders der Quellungserscheinungen sehr gut geeignet.

Hier würden natürlich alle jene Färbemethoden zu erwähnen sein, die außer der Färbung der Stärkekörner auch die Darstellung deren Schichtung bezwecken, doch davon später. Eine originelle Art der Sichtbarmachung empfiehlt H. FISCHER, der zum Studium der Schichtung Mikrophotogramme herstellt, was ihn in den Stand setzt, die strukturelle Übereinstimmung der geschichteten Stärkekörner mit in Gummi gezüchteten Inulinsphäriten zu zeigen. Die radiäre Struktur wurde besonders mit Xylol-Alkohol und Erhitzen deutlich gemacht.

Färbung. Seitdem CORRENS die Versilberung zum Strukturnachweis der Membran und der Stärkekörner angewendet hat, wurden eine ganze Anzahl Methoden zu gleichen oder ähnlichen Zwecken empfohlen, die entweder auf demselben oder dem von ZIMMERMANN angewendeten Prinzipe beruhen. So hat LAGERHEIM eine haltbare Stärketinktion in die botanische Mikrochemie eingeführt, die im wesentlichen darin besteht, daß er die mit einer bestimmten Jodjodkaliumlösung blaugefärbten Stärkekörner zunächst mit Silbernitrat behandelt, der Sonne aussetzt und dann das so erzeugte Jodsilber mit einem Hydrochinonentwickler entwickelt. Das gut ausgefallene Präparat zeigt die Stärkekörner braungefärbt. Die zu hell gefärbten Körner können „verstärkt“ werden. LAGERHEIM empfiehlt die erzielte Färbung für Demonstrationszwecke. Bei aller Anerkennung für seine Methode kann ich die Bemerkung nicht unterdrücken, daß man zur Demonstration immer das Geläufigste, das Alltägliche verwenden soll, und da scheint mir die Braunfärbung noch nicht die richtige Vorstellung von dem Bilde der vom Zögling später hunderte Male selbst auszuführenden Jodprobe zu liefern.

Haltbare Dauerfärbungen der Stärke haben weiter noch SCHAFFNER und DODGE angegeben. Das CORRENS-LAGERHEIMsche Silber-

verfahren fand neuerdings SALTER geeignet. Zur Tinktion sollen Methyl-, Gentianaviolett und Ammoniakfuchsin, zur Doppelfärbung, also gleichzeitigen Deutlichmachung der Chromatophoren, aufeinanderfolgende Anwendung von Säurefuchsin und Gentiana- oder Methylviolett gut sein. H. FISCHER rät behufs Sichtbarmachung der Schichtung an, auf die Stärkekörner von Canna indica wässerige Farbstofflösung zu tropfen, eintrocknen zu lassen und nachher Pikrinsäure zuzusetzen. Geeignet sind dazu Fuchsin, Safranin, Methyl- und Methylenblau, denn diese fallen bei der Behandlung mit Pikrinsäure als feiner Niederschlag in den wasserreichen Schichten aus. Andere Farbstoffe sind deshalb ungeeignet, weil sie entweder diffus oder gar nicht färben. So werden Lösungen von Nigrosin, Hessisch Purpur, Echtrot, Ammoniak-Karmin, Anilinblau, Kongorot und Zyanin in 50prozentigem Alkohol nicht aufgenommen. Methylenblau dringt langsam ein. Dagegen färben rasch und stark: Fuchsin, Safranin, Chrysoidin, Malachitgrün, Methyl-, Jodgrün, Gentianaviolett auch in stark verdünnten Lösungen.

Abgesehen von diesen Allgemeinfärbungen der Körner sind jedenfalls die oben angegebenen über die Sichtbarmachung der Schichtung die interessantesten, auch weil sie wiederum einen Beitrag zur Theorie der Färbungen zu liefern vermögen. Aus der Tatsache nämlich, daß nur die wasserreichen Schichten in den genannten Fällen gefärbt erscheinen, würde man sich zu dem Schlusse berechtigt glauben, daß den weicheren Schichten allein das Farbstoffspeicherungsvermögen zukommt, während es den dichteren ganz abginge. Dieser Schluß stimmt nun mit anderweitigen Erfahrungen FISCHERS nicht, die ihn gerade die dichtesten Partieen am intensivsten gefärbt erscheinen ließen. Merkwürdig ist auch der Befund, daß schwache Lösungen der oben für lokalisierte Fällung empfohlenen Farbstoffe bei gleicher Nachbehandlung nur diffus färben.

Es dürften hier wohl Versuche wie die v. WISSELINGHS über Zellulosefärbung die Möglichkeit einer Erklärung näherrücken. In einer späteren Arbeit hat sich H. FISCHER des LAGERHEIMschen Silberverfahrens für Dauerfärbungen bedient und es für kleine Stärkekörner nicht, wohl aber für große ganz ausgezeichnet geeignet gefunden. Noch einfacher aber ist es nach seinen Erfahrungen, die stark mit Jod überfärbten Stärkekörner in Kanadabalsam zu legen, worin sich der Überschuß farblos löst und die Stärkekörner gefärbt bleiben. Eine interessante Doppelfärbung der Stärkekörner selbst hat KRAEMER mitgeteilt. Er färbt mit verdünnten wässrigen Lösungen von Gentiana-

violett und Safranin. Dabei färben sich nur die wasserreichen Schichten und das Zentrum. Mit Jod kann er nun die ungefärbt gelassenen nachfärben. Die Doppelfärbung wird bei 60 bis 65° C. ausgeführt. Mit Chromsäure, Calciumnitrat und Speichel kann man noch den kristallinischen Aufbau deutlich machen und auch die Lösungsverhältnisse genauer studieren. — Nach Red soll auch das Mannsche Membranfärbeverfahren zur Tinktion der Stärkekörner sehr geeignet sein. Im Prinzipe stimmt mit dem Jod-Kanadabalsamverfahren H. Fischers eines, das Harz unter dem Titel „Jodparaffinöl, ein neues Mikroreagens und Einbettungsmedium", in dieser Zeitschrift veröffentlicht hat, überein. Bereits früher hatte er auf das farblose Paraffinöl als gutes Einbettungsmittel für Stärke hingewiesen. Nun färbt er sie auch noch mit Jod, das im Verhältnisse 1 : 100 im Paraffin gelöst wird. Die Stärke wird gelb bis dunkelbraun und zeigt oft eine scharfe Differenzierung in dunkelbrauner Farbe, die pferdeschweifartig vom Kornkern ausgeht, nur vereinzelte Körner werden blau. Dabei verhalten sich die verschiedenen Stärkesorten verschieden. Auch diese Färbung soll für Demonstrationszwecke geeignet sein.

Und mag nun die Braunfärbung noch so gut gelungen sein, ein Bild von der Blaufärbung gibt sie nicht, und bevor diese nicht — und das wird wegen des nötigen Wassergehaltes recht schwer sein — „haltbar" gemacht wird, wird für die Demonstration der „Jodprobe" kein Fortschritt zu verzeichnen sein.

Florideenstärke. Wegen ihres eigentümlichen Verhaltens gegen Jodlösungen wurden, wie bekannt, die von van Tieghem und Belzung untersuchten stärkeartigen Körnchen in den Zellen der Florideen als Florideenstärke bezeichnet. Bis 1892 war über ihre chemische Zusammensetzung noch nichts bekannt und, wenn wir aufrichtig sein wollen, so gilt dies auch heute noch, denn die beiden großen Arbeiten, die seither sich mit diesen interessanten Körpern beschäftigt haben, enthalten doch eigentlich bloß sehr wertvolle Beiträge zur Kenntnis ihres Verhaltens gegen Jodreagentien, ihrer Verbreitung usf., ohne über ihre Chemie Aufschluß geben zu können. Es handelt sich um die Schriften von Kolkwitz und Bütschli.

Läßt man nach Kolkwitz Florideenstärke erst in Chloralhydrat aufhellen und färbt dann mit Jodjodkalium, so kann man zwei Farbennüancen beobachten, den Laurencia- und den Furcellaria-Typus, wovon der letztere dem Kartoffel-, der andere dem Macistypus nahekommt. Beachtenswert ist; daß sich die Stärke von Spermothamnium Turneri mit Chloralhydrat allein bläut. Vermutlich macht dieses Jod aus irgend einer Verbindung frei; ganz ähnlich wirkt Schwefelsäure auf die Karposporen von Ceramium rubrum.

Bütschli, der auch die makrochemischen Eigenschaften der Florideenstärke berücksichtigt, kann auf Grund ihres Verhaltens gegen Jod, in

Dampfform oder in Lösung, Jodjodkalium nach Meyer, Kaliumchlorid usf. mit und ohne Vorbehandlung mit Kalilauge eine ganze Skala von Farbentönen bei ihr feststellen von Saccardo vinosus bis zum Saccardo violaceus und lividus Saccardo.

Trotz dieser Untersuchungen kann ich also wohl auch heute noch diesen Abschnitt mit Zimmermanns Schlußsatz beschließen: „Eine genauere chemische Untersuchung über die Substanz der Florideenstärke fehlt zurzeit noch.“

Phäophyceenstärke. Schmitz hatte im Cytoplasma von Phäophyceen farblose Körnchen beobachtet, die sich mit Jod nicht färben sollten, Berthold hatte deren Vorkommen bestritten. Hansen konnte wiederum fettähnliche Tropfen wahrgenommen, die in Wasser unlöslich sind und in Glyzerin zusammenfließen, ohne sich darin zu lösen. Sie werden mit Jodjodkalium dunkelbraun. Kalilauge läßt sie zunächst deutlich hervortreten, macht sie aber bald durch Verseifung schaumig. In 90 % Alkohol und Äther sind sie leicht löslich. Hansen spricht daher den Phäophyceen echte Stärke vollständig ab. Schon vorher hat Crato die von B. Hansteen als organoid beschriebenen merkwürdigen Gebilde der Phäophyceenzelle für organisch erklärt und durch Reaktionen der verschiedensten Art deutlich zu machen gesucht. Auch hatte er ihnen einen neuen Namen „Physoden“ gegeben. Die neuerliche Prüfung ließ nun Hansteen zur Überzeugung kommen, daß seine „Fukosankörner“ doch organoide und nicht organische Gebilde sind. Ganz besonders auffällig ist die von Crato zuerst beobachtete Phlorogluzinreaktion dieser Körper mit Linds Reagens (Vanillinsalzsäure). In jüngster Zeit hat Hunger diese Tatsache bestätigen und hinzufügen können, daß 1 % Osmiumsäure in Meerwasser, Schwärzung der Körper erzeugt. Hunger betont ausdrücklich, daß nur die im Zelllumen liegenden Inhaltskörper von Dictyota die genannten Reaktionen geben.

Wir sehen, daß heute, wo noch über die organische oder organoide Natur dieser Körper der Phäophyceenzelle Uneinigkeit herrscht, von der Erschließung der chemischen Natur dieser Gebilde gar keine Rede sein kann, müssen aber doch zugeben, daß unsere Erkenntnis in dieser Richtung im Laufe der letzten 10 Jahre insofern zugenommen hat, als man wenigstens das Vorhandensein derselben nicht einfach mehr hinwegdisputieren kann. A. Meyer findet übrigens, daß die Fukosankörner zum Teile aus Volutin bestehen.

Amylinkörner bei Beggiatoa. Hinze beobachtete bei Beggiatoa mirabilis Körner, die sich mit Jodjodkalium bläulich oder bräunlich färben und die im Speichel langsam löslich sind. Hinze hat sie deshalb Amylinkörner genannt.

Rote Stärke (Amylodextrin oder Dextrinstärke). Der Name rührt, wie bekannt, von dem roten Farbenton her, den diese Stärkesorte mit Jod liefert. Eine eingehende Behandlung hat sie durch Shimoyama und A. Meyer erfahren. Heinricher fand sie wieder im Tracheïdenkopf und den Tracheïden der Lathraea clandestina und Squamaria, während im Rindenparenchym gewöhnliche Stärke vorkommt. Jodalkohol färbt gelblich, Jodjodkalium rotbraun. Einige Stärkekörner sind sogar aus „blauer“ und aus „roter“ Stärke zusammengesetzt, und zwar so, daß die rote die Hülle der blauen bildet.

MacDougal fand sie in den Sommerknollen von Isopyrum. Sperlich beobachtete sie im hyalinen Gewebe der inhaltsreichen Haustorien von Rhinantaceen. Der Nachweis gelang nur nach Zerstörung des Inhaltes mit Eau de Javelle.

Braune Stärke. Bei seinen Untersuchungen mit der von ihm eingeführten Jodmilchsäure fand Lagerheim nun auch Amylodextrinkörner, die sich bräunten, in den Kelchblättern von Anemone nemorosa, A. nemorosaranunculoides, nicht bei A. ranunculoides, wodurch die „mikrochemischen Stärkesorten“ wieder um eine vermehrt erscheinen.

Verwandte Stoffe. 1) Amyloid. Nach v. Wisselingh wird es durch eine Lösung, die 0·04prozentiges Jod, 0·4prozentiges Jodkalium und 10prozentige Schwefelsäure enthält, gebläut. Zellulose braucht einen höheren Schwefelsäuregehalt zur Blaufärbung, daher können beide gut unterschieden werden. Auch Riedel hat sich mit dem Körper beschäftigt. 2) Die lösliche Stärke. Mit diesem Ausdruck scheint zweierlei bezeichnet zu werden. Die Botaniker verstehen darunter Körner, wie sie im Zellsafte der Epidermiszellen, z. B. von Saponaria officinalis vorkommen, die Chemiker aber jenes Produkt, das entsteht, wenn man Kartoffelstärke mit Salzsäure von 7·5 Prozent übergießt, 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen läßt, abgießt und diese Prozedur zweimal wiederholt, worauf mit Wasser ausgewaschen und verdünntes Natriumkarbonat zugesetzt wird. Da sie sich selbst bei Kochhitze nicht mit Gelatine mischen läßt, kann man die erzeugte Emulsion nach Beijerinck zu interessanten Demonstrationen verwenden: Nachahmung eines künstlichen Zellgewebes, bei dem die Zwischenwände aus Stärke, der „Zellinhalt“ aus Gelatine besteht oder eine Art Imitation autochthoner Stärke u. dergl. mehr. Bei Erhöhung des Gelatinegehaltes scheidet sich die Stärke in der Gelatine in Form von Körnern ab, die aber keine Doppelbrechung zeigen und somit kein neues Licht auf die Struktur und Bildungsweise der Stärke zu werfen vermögen.

8. Schwefelkohlenstoff.

Das auf Java sehr verbreitete, auf alten abgefallenen Zweigen von Podocarpus, toten Bambusstengeln und totem Zuckerrohr vorkommende Schizophytum lobatum Bref., erzeugt nach Went am Myzel eigenartige kurze Seitenzweige, an deren Spitze Tröpfchen einer stark lichtbrechenden Flüssigkeit zu erscheinen pflegen. Gleichzeitig beobachtet man einen auffälligen Geruch nach Schwefelkohlenstoff. Um die Schwefelkohlenstoffausscheidung nachzuweisen, wurde der Pilz in Kultur genommen (Zuckerpepton) und das in alkoholischer Kalilauge aufgefangene Destillat der Kulturflüssigkeit näher untersucht. Der nach entsprechender Behandlung entstandene Niederschlag von xanthogensaurem Kupfer wies auf das Zutreffen der Annahme hin.

Es wäre gewiß eine dankbare Aufgabe, mikrochemisch in den Guttationströpfchen vielleicht den Schwefelkohlenstoff nachzuweisen.

9. Asparagin und Leucin.

Von neueren Arbeiten über Asparagin seien genannt: Die Belzungs „Sur divers principes issus de la germination et leur cristallisation intracellulaire“ und Löws „Das Asparagin in pflanzenchemischer Beziehung“.

Belzung teilt mit, daß das Asparagin auch intracellulär zur Kristallisation gebracht werden könne, wenn man die zu untersuchenden asparaginhaltigen Schnitte in reines Glyzerin übertrage. Es kristallisiert dann in rhombischen oder rechteckigen Tafeln aus.

Auch das Leucin hat Belzung in analoger Weise kristallisieren lassen. Es fällt in Glyzerin in herzförmigen Lamellen aus. (Versuchsobjekt Lupinus albus.)

10. Blausäure HCN.

Treub ist es gelungen, die Reaktion auf Blausäure mikrochemisch auszuwerten. Behandelt man nämlich nicht zu feine Schnitte von Pangium edule mit alkoholischer Kalilauge, Eisensulfat-Eisenchlorürlösung und 20prozentiger Salzsäure, so entsteht in den blausäurehaltigen Zellpartien ein Niederschlag von Berlinerblau. Um die Verteilung der Blausäure auch makroskopisch zu demonstrieren, muß man die Blätter zunächst durch einen Schlag mit der Bürste mit möglichst vielen Wunden versehen; es entstehen nachher bei der Reaktion rings um die Wunden blaue Flecke. Natürlich ist bei Treubs Versuchsanstellung der Einwand gestattet, daß auch durch Zersetzung entstandene Blausäure angezeigt wird, doch kann im Falle Pangium davon abgesehen werden, da Greshoff makroskopisch Blausäure bei dieser Pflanze nachgewiesen hat. In ausführlicher Weise hat er 1905 seine Erfahrungen in der Arbeit „Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes“ zusammengestellt.

B. Aromatische Reihe.

1. Phenole.[1]

Phloroglucin $C_6H_3(OH)_3$. Weselsky hat bekanntlich eine, wie man bisher meinte, präzise Reaktion auf Phloroglucin veröffentlicht, die darauf beruht, daß stark verdünnte Lösungen dieses Körpers mit salpetersaurem Toluidin und sehr verdünnte Lösungen von salpetersaurem Kalium oder Natrium ein Gemisch liefern, das anfangs farblos, später gelblich, dann orangerot wird und zum Schlusse einen zinnoberroten Niederschlag

[1]) Eine Übersicht über die Reaktionen der Phenole hat H. Behrens in seiner Arbeit „Mikrochemischer Nachweis und Unterscheidung der Phenole“ und in seiner A. z. m. A. d. o. V. gegeben.

absetzt. TH. V. WEINZIERL hat WESELSKYS Probe für mikroskopische Zwecke ausgewertet. Später wurde nach den großen Fortschritten, die die Holzuntersuchung durch WIESNERS Holzstoffprobe mit Phloroglucin-Salzsäure gemacht hatte und nach der vermutungsweisen Feststellung SINGERS, Vanillin sei der Träger der Holzreaktion, von LINDT Vanillin-Salzsäure zum Phloroglucinnachweise verwendet. Beide Phloroglucinproben wurden bisher als eindeutig und unzweifelhaft sicher angesehen. MÖLLER stellte nun neue vergleichende Versuche über mikrochemische Reaktionen an und kam in seiner Arbeit „Über das Vorkommen von Phloroglucin in den Pflanzen" zu dem Schlusse, daß sowohl makroskopisch wie mikroskopisch überall dort, wo LINDTS Probe gelinge, auch die Gerbstoffprobe zu erzielen sei, und zwar mit gleicher Intensität und gleicher Lokalisation, ja noch mehr, er konnte in denselben Zellen durch Salzsäurebehandlung die eine Probe in die andere überführen, so daß man, je nach Zusatz von Eisensalzen oder Salzsäure und Vanillin, folgende Farbenfolge bekam: Dunkelblau, gelb, farblos, rot, farblos, dunkelblau. Dadurch ist den Phloroglucinproben scheinbar sehr viel an Wert genommen, und alle Fälle von Phloroglucinnachweis vor und nach MÖLLER, die sich noch auf die Vanillin-Salzsäureprobe stützen, sind heute als doppeldeutig anzusehen; vgl. KLEMMS Nachweis von Phlorogluzin mit LINDTS Reagens in den Granulationskörnchen, den CRATOS bei seinen „Physoden", HANSTEENS „Fukosankörnern", ebenso den HUNGERS beim Assimilationsprodukte von Dictyota, vgl. auch BRENNERS Phloroglucinprobe bei Idioblasten von Fettpflanzen. Aus demselben Grunde erscheint CZAPEKS Vorschlag, statt der Vanillinsalzsäure Hadromalsalzsäure zu verwenden stark in seiner Bedeutung geschädigt, der ohnehin mit dem Nachteil zu rechnen hatte, daß das Hadromal erst dargestellt, noch ein Mixtum compositum ist, während Vanillin leicht käuflich, rein in Verwendung kommen kann.

Die MÖLLERsche Arbeit scheint übrigens WAAGES Beobachtungen über die Speicherung von Methylenblau in „Phlorogluzinzellen" zu erklären.

2. Säuren.

Tyrosin. Im großen und ganzen ist heute noch die BORODINsche Methode des Tyrosinnachweises üblich. So hat sich ihrer SHIBATA in seinen „Beiträgen zur Wachstumsgeschichte der Bambusgewächse" bedient. Er findet, daß die rote Auflösung in MILLONS Flüssigkeit ein ganz ausgezeichnetes Erkennungsmerkmal abgibt. Zur Feststellung der Verteilung des Tyrosins sei das Einlegen in MILLONsches Reagens sehr zweckmäßig, wodurch die tyrosinreichen Zellen sofort intensiv rot würden.

Eine Verwechslung mit der Eiweißprobe könne mit Auslaugen der Schnitte in absolutem Alkohol ausgeschlossen werden. SAITO beobachtete Rotfärbung der Bastzellen verschiedener Monokotyledonen mit MILLON und ist geneigt, wenigstens bei Bambusa, Tyrosin als Ursache anzunehmen.

Übrigens ist er mit dieser Annahme nicht zuerst vorgetreten, da schon CORRENS gelegentlich seiner Widerlegung WIESNERS auf die durch MILLON bewirkte Rotfärbung der Membranen in Bromeliaceenblättern zu sprechen kommt und sie auf Tyrosin zurückführt.

3. Aldehyde.

Vanillin $C_8H_8O_3$ (Schmelzpunkt bei 80°). Zur Orientierung über das Vorkommen des Vanillins sei auf W. Busses „Studien über die Vanille" und J. Behrens' Arbeit „Über das Vorkommen des Vanillins in der Vanille" verwiesen. — Indem ich der geschichtlichen Entwicklung etwas vorgreife, reihe ich das von Czapek als neu beschriebene Hadromal in das Kapitel über Vanillin. Bekanntlich hat Czapek durch entsprechende Präparation aus dem Holze einen aldehydartigen Körper isoliert, der stark nach Vanillin roch und die Proben dieses Stoffes in ganz besonderer Weise zeigte. Czapek hat ihn, weil eine volle Identifizierung nicht möglich war, als neu beschrieben und mit dem Namen Hadromal belegt (vgl. Holz). Da es nun aber Grafe gelungen ist, dessen Zusammensetzung aus Vanillin ($C_8H_8O_3$), Brenzkatechin ($C_6H_6O_2$) und 2 bis 5 Methylfurfurol ($C_6H_6O_2$) zu erweisen, stehe ich nicht an, auch das Hadromal unter Vanillin zu subsumieren, soweit es nicht aus den beiden andern Komponenten besteht.

Wie die Sache heute liegt, gibt es kein Hadromal mehr und die Zahl der wichtigen pflanzlichen aromatischen Aldehyde ist wieder auf die Zahl fünf[1] beschränkt, wenn man nicht die von Géneau und Lidforss beschriebenen dazu rechnen will. Auf Grund von Farbstoffreaktionen (Eintreten der Färbung mit Schiffs Reagens) nimmt nämlich Géneau auch einen besonderen Aldehydstoff in Cuticulahäuten an, und Lidforss vermutet einen aromatischen Aldehyd in den elaioplastenartigen Gebilden der Epidermiszellen von Potamogetonarten.

4. Kohlenwasserstoffe $(C_{10}H_{16})$n.

Über ätherisches Öl vergleiche das Kapitel „Unterscheidung des fetten und ätherischen Öles" (oben p. 214).

Myrrhe. Über ein Reagens auf Myrrhe vgl. E. Hirschsohn.

Harze. Überblickt man die Erfahrungen Heckels und Schlagdenhauffens über die nahe Verwandtschaft von Gerbstoffen und Harzen und deren Entdeckung eines Gerbstoffharzes bei Spermolepis, Rymoschs über die Harzreaktion eines Öls mit Kupferacetat und Buscalionis über die Rotfärbung von Harz mit Sudan III, so kann man nicht anders als Tschirch recht geben, wenn er meint, es gebe kein einheitliches Harzreagens, denn „Harz" sei wie „Gerbstoff" ein Sammelbegriff der verschiedensten Substanzen. Er umfasse Verwandte der Öle und Fette und der Gerbstoffe. Doch gebe es gewisse Mittel der Unterscheidung: Chloralhydrat löst Fette schwerer als Harzbalsam. Vorzügliche Resultate liefert die Verseifungsmethode, die sich darauf gründet, daß sich in Harzsekreten fast immer Terpene finden, die unverseifbar sind, und daß die Glyzerinester und Fettsäuren bei Behandlung mit Alkalihydraten schon in der Kälte Seifen liefern, die in Wasser löslich sind. Doch versagt sie natürlich überall dort, wo

[1]) Behrens, A. z. m. A. d. w. o. V., 1. H., 1895, p. 57—63.

die im Kali nicht löslichen Bestandteile, Resene und Terpene, in Harzsekreten fehlen oder gegen die löslichen, Oleole, Resinole und die Resinolsäuren, stark zurücktreten. Handelt es sich aber nicht um genauere Unterscheidungen, so wird immer noch die Unverdorben-Franchimontsche Kupferacetatprobe recht geeignet sein; man sieht sie daher noch allgemein in Anwendung. So benutzte sie Frau Schwabach bei ihren Studien über Harzabscheidungen. Zalewski verwendete heißes Kupferoxalat zum Nachweis der Harzfüllung der Resinocysten. — Nach Trotter gibt das eigenartige Sekret mancher Eichengallen, das auf diesen einen glänzenden Belag bildet, harzartige Reaktionen und Tichomirow weist Harze in intracellulären Einschlüssen nach. — Kristallisation. Molisch gelang die Kristallisation des Aloïns in den Aloïnzellen von Aloë succotrina mittels Glyzerin.

Kautschuk. Eine Unterscheidung von Kautschuk und Harz unter dem Mikroskope ist nicht leicht, auch existierten keine mikrochemischen Methoden der Unterscheidung. Man war daher geneigt, weil die makrochemische Analyse z. B. beim Ficusmilchsafte im wesentlichen Kautschuk ergeben hatte, die größeren Kügelchen, die die Hauptmasse bildeten, als Kautschuk anzusprechen und anzunehmen, daß die kleineren Harztröpfchen seien. Molisch hat gezeigt, daß die Kügelchen sich zum Teil in Alkohol lösen, während der Rest nach den physikalischen Eigenschaften zu schließen aus Kautschuk besteht. Die Kügelchen sind löslich in Äther, Benzol und Schwefelkohlenstoff, unlöslich in Wasser, Glyzerin, verdünnten Säuren und Alkalien. Chloralhydrat macht sie quellen und wandelt sie in amöbenartige Massen um. Alkanna färbt sie wie ätherisches Öl und Fette. Hervorgehoben aber sei, daß sie mit konzentrierter Zuckerlösung und Schwefelsäure sehr schön die Raspailsche Reaktion geben, wodurch zu weiterer Vorsicht bei der Anwendung von Eiweißreaktionen gemahnt wird, vgl. Krasser. — Fritsch hat beim Studium des Kautschuks bei Hippocrateaceen gefunden, daß dieser lebhafte Doppelbrechung zeigt, die beim Kochen mit Wasser und bei Einwirkung heißer Kalilauge verloren geht, um nachher wieder aufzutreten. Beim Erwärmen verflüchtigt sich dieser Kautschuk.

Guttapercha. Mit dem Kautschuk wird oft ein anderer Stoff pflanzlichen Ursprungs verwechselt, dessen Studium sich Obach gewidmet hat, die Guttapercha. Der chemischen Zusammensetzung nach besteht sie aus Kohlenwasserstoffen der Terpenreihe, von denen die wichtigsten sind Isopren (C_5H_8) und Kautschin ($C_{10}H_{16}$), die nämlichen Stoffe, die auch aus Kautschuk isoliert worden sind. Sie ist das Rohprodukt aus dem Milchsafte des Guttaperchabaumes (Taban Merah, Palaquium Gutta), einer Sapotacee. Da wir es hier offenbar mit einem sehr interessanten Stoffe der Kautschukgruppe zu tun haben, habe ich, obwohl mikrochemisch hier noch nicht viel geleistet ist, diese Notiz in mein Referat mit aufgenommen.

5. Glykoside.

Trotz aller Versuche, einheitliche Reagentien für die Glykosidgruppe zu ermitteln, besitzen wir heute ebensowenig eines wie zur Zeit der Veröffentlichung der Mikrotechnik von Zimmermann.

Nachdem WEEVERS darauf aufmerksam gemacht hatte, daß die übliche Methode, Glykoside durch Behandlung der Objekte mit konzentrierter Schwefelsäure nachzuweisen, keine einwandfreien Resultate liefert und daß auch die von MOLISCH eingeführte α-Naphtol-Probe, auf Glykoside angewandt, entsprechende Vorsicht erheische, schien GORIS für kurze Zeit das Problem gelöst zu haben, indem er SONNENSCHEINS eisenhaltige Salpetersäure und Ammoniak auf glykosidhaltige Zellen anwandte. Daß er sich auch getäuscht hat, konnte CAZZANI zeigen (vgl. Gerbstoffe). Es erübrigt daher eine kurze systematische Besprechung der Reaktionen einiger Glykoside. Salicin: Nach WEEVERS ist es am geeignetsten, die Spaltungsprodukte dieses Glykosids nachzuweisen, doch ist es bisher nicht gelungen, diese sekundär auftretenden Körper lokalisiert zu fällen, nach GORRIS kann es mit selensaurem, in Schwefelsäure gelöstem Natrium sichtbar gemacht werden. Aesculin: Zu seinem Nachweis ist SONNENSCHEINS Reagens besonders empfehlenswert. Es zeigt schöne Rotfärbung. Fustin wird nach GORIS mit SONNENSCHEINschem Reagens schwach rot, Fraxinin auf gleiche Weise behandelt: veilchenblau, wird mit Kalilauge, Ammoniak und Calciumoxydhydrat gelb (?), Daphnin wird mit Kalilauge gelb. Anthokyan gehört nach WEIGERT und OVERTON auch in diese Gruppe und soll an Gerbstoff gebunden sein. GORRIS hält auch eine Bindung der gewöhnlichen Glykoside mit Gerbstoff für möglich.

Indikan. Die Muttersubstanz des Indigo ist ein farbloses Glykosid, das Indikan, das durch die verschiedensten Agentien in Indigblau und eine Zuckerart gespalten werden kann. Um nun diese Zerspaltung innerhalb der indikanhaltigen Zellen zu bewirken, bringt MOLISCH die lebenden Pflanzenteile in Alkoholdampf. Nach 24 Stunden ist die Abspaltung des Indigoblaus erfolgt, das durch Extraktion des Chlorophylls mit Alkohol schon makroskopisch sichtbar, der SACHSschen Jodprobe entsprechend, einen Überblick über die Verteilung des Indigos und seiner Muttersubstanz gestattet. Mikroskopisch wird am besten in einer Chloralhydratlösung 5 : 2 beobachtet. Man sieht in dem Präparate Körnchen oder Kriställchen von Indigo. Die MOLISCHsche Indikanprobe läßt sich natürlich auch mit 40-prozentigem Alkohol erzielen, doch da das Indikan in Alkohol löslich ist, wird es sich teilweise der Beobachtung entziehen. Bleibt man dagegen bei der Alkoholdampfeinwirkung, so gelingt es auch bei einiger Übung, den Sitz des Indikans im Chlorophyllkorn zu ermitteln. Behandelt man nämlich nach MOLISCH Blätter von Phajus grandifolius, Isatis tinctoria mit Alkohol-, Ammoniak- oder Chloroformdämpfen, so erweist sich das Indigblau auf die Chlorophyllkörner der jungen Blätter lokalisiert. Es scheint also das Indikan im Chlorophyllkorn zu entstehen. — Indikan beobachtete MOLISCH auch bei seinen Untersuchungen über Milch- und Schleimsaft in dem die Milchröhren begleitenden Mesophylle von Echites religiosa.

Eine zusammenfassende historisch-histologisch-mikroskopisch-mikrochemische Skizze von MOLISCH ist in WIESNERS „Rohstoffen" erschienen, aus der nur die Verwendung der Sublimation des Indigos und seine leichte Unterscheidbarkeit von künstlich erzeugtem Indigo hervorgehoben sein mögen, Bemerkungen, die um so wichtiger sind, als es 1878 BAEYER gelang, das Isatin und damit den Indigo künstlich darzustellen.

Saponarin. Das von BARGER genauer studierte Glykosid färbt sich mit Jod intensiv blau. Es scheint einem Flavonderivat anzugehören und eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Scutellarin von MOLISCH und GOLDSCHMIEDT zu haben.

6. Farbstoffe.

a) Chlorophyll.

Mikrochemische Reaktionen. Die Zahl der mikrochemischen Reaktionen auf Chlorophyll war nicht gerade groß. Mit Ausnahme der Hypochlorin- oder Chlorophyllanreaktion, die nach A. MEYER mit Eisessig ausgeführt wird, sucht man in ZIMMERMANNS Mikrotechnik vergebens nach einer zweiten. — Eine neue Reaktion hat MOLISCH angegeben. Schon 1892 fand er bei seinen Untersuchungen über das Eisen, daß das Chlorophyll in gesättigter Kalilauge sofort hellbraun, nach wenigen Minuten oder einer Viertelstunde aber wieder grün wird. Dieses Umschlagen von Braun in Grün geht sofort und viel schöner beim Erwärmen oder Hinzufügen von Alkohol vor sich. Die Reaktion gelingt bei zahlreichen Objekten, auch bei solchen, die jahrelang im Herbar gelegen hatten. Das einmal gebildete Alkalichlorophyll läßt natürlich nach dem Auswaschen mit Wasser und neuerlicher Behandlung mit Kalilauge keinen Farbenumschlag mehr eintreten. Auch wenn das Chlorophyll nur mit verdünnter Kalilauge behandelt wird, gelingt die Reaktion nicht mehr. Bei Diatomeen und Phaeophyceen ist vorherige Behandlung mit siedendem Wasser notwendig. Bei Florideen und Cyanophyceen machen die gleichzeitigen Farbstoffreaktionen die Chlorophyllprobe minderwertig. TSWETT hat im selben Jahre mit Wasserstoffsuperoxyd und Ferrocyankalium experimentiert und die Hypochlorinreaktion genauer studiert. Essig-, Phosphor- oder Salzsäure lassen deutlich dichroitische Kristalle auftreten. Überdies scheint Kaliumpermanganat zur Deutlichmachung der Struktur der Chloroplasten, Schwefel- und Salpetersäure aber wegen der Lösung der Stärke für die Untersuchung sehr geeignet. In der Folge fand TSWETT, daß konzentrierte Lösungen von Dioxybenzolen (Resorcin, Pyrokatechin) Proteïnstoffe lösen und verflüssigen. Das Cytoplasma wird in Resorcin sofort gelöst, die Chlorophyllkörner ballen sich dagegen zu hyalinen, halbflüssigen Massen zusammen, nachdem sich in ihnen kleine grüne Tröpfchen abgeschieden haben. Alkalisches Resorcin, das rascher wirkt, löst die Chloroplasten und der Farbstoff der ganzen Zelle fließt in große Kugeln zusammen,

die als Chloroglobin bezeichnet werden. Beim Auswaschen mit Wasser oder Glyzerin ballt sich der Farbstoff in Klumpen zusammen. Mit Chloralhydrat erhält man ähnliche Resultate. Bei Einwirkung von neutraler Resorcinlösung auf Chloroglobin entstehen Karotinkristalle. Säuren rufen Chlorophyllanbildung hervor. Eiweißprobe gibt das Chloroglobin nicht.

Molisch weist endlich Indikan durch Indigobildung im Chlorophyllkorne der Indikanpflanzen nach (man vgl. das Kapitel Glykoside).

Fixierung und Färbung der Chloroplasten. — Angaben über Fixierung und Färbung bei Oltmanns, Salter u. a. — Buscalioni kann mit Sudan III im Chlorophyllkorn gewisse winzige Körnchen intensiv rot färben, während das Korn sonst zart rot bleibt. Prowazek benutzt einprozentige Chromessigsäure zur Fixierung und Gentianaviolett zur Färbung der Chromatophoren. — Panachure und Chlorose. Zimmermann konnte Chromatophoren in chlorotischen Blättern nachweisen, auch bei panachierten kommen scharf abgegrenzte Chromatophoren vor, nur bei ganz weißen können sie fehlen. Weitere Aufschlüsse gibt Kohls Arbeit über Karotin. In neuester Zeit hat Pantanelli Sublimat-Pikrinsäure, Säurefuchsin oder Gentianaviolett für die Darstellung der Chromatophoren panachierter Blätter als zweckmäßig angegeben.

b) Karotin.

Dem bisherigen Nachweise des Karotins gegenüber stellt das von Molisch angegebene Kristallisationsverfahren einen bedeutenden Fortschritt vor, auf dem auch die von Kohl vorgeschlagene Gliederung in Eukarotine und Karotinine beruht.

Nach dem von Molisch als Kalimethode bezeichneten Verfahren werden die frischen grünen Blätter oder kleine Stücke derselben in 40volumprozentigen Alkohol, der 20 Gewichtsteile Kalilauge gelöst enthält, gelegt und darin mehrere Tage, gewöhnlich solange bei Abschluß von Licht belassen, bis alles Chlorophyll ausgezogen ist. Ist dies geschehen, so wird die Kalilauge durch destilliertes Wasser ausgewaschen. Schließlich werden die Blattfragmente zum Zwecke mikroskopischer Beobachtung in Glyzerin übertragen. Man findet dann innerhalb der früher chlorophyllführenden Zellen das Xanthophyll (Karotin) in der Regel in Kristallform abgeschieden, selten in Form gelber Tröpfchen oder den Zellinhalt durchtränkend.

Etwa bei 100 Phanerogamengattungen wurde auf diese Weise die Kristallisation erzielt. Auch eine neue Reaktion auf diese Kristalle konnte in Phenol- oder Thymol-Salzsäure angegeben werden. Bei Algen tritt die Kristallisation auch oder nur außen auf. Bei

Oscillaria leptotricha erzielt man mit Essigsäure allein die Kristallisation. Dabei geht Chlorophyll und Karotin aus den Zellen, während das Phykocyan allein in ihnen zurückbleibt.

Zum direkten Nachweise des Karotins erwies sich nach KOHLS kritischer Behandlung des Gegenstandes, auf dessen Literaturzusammenstellung ich verweise, konzentrierte Schwefel-, konzentrierte Salpeter- und Salzsäure, diese mit Phenol oder Thymol, Bromwasser und Bromdampf am geeignetsten, für den indirekten MOLISCHS Kali- oder FRANKS Säuremethode.

Die CARNAUDsche Formel für das Karotin wird mit $C_{26}H_{38}$ angegeben und von KOHL akzeptiert.

MOLISCH hat noch im Erscheinungsjahre von KOHLS Arbeit Beobachtungen über eine interessante Verfärbung grüner Aloë- und Selaginellablätter nach Rotbraun, hervorgerufen durch starke Sonne, veröffentlicht und gezeigt, daß diese Verfärbung auf Umwandlung des Chlorophylls in Karotin beruht. Auch die Rötung fertiler Equisetenstengel ist auf Karotinneubildung zurückzuführen. Das Karotin wies er mit den gebräuchlichen Methoden nach. JANSSENS und MERTENS fanden, daß das Pigment der rosa Hefe neben anderen Stoffen auch Karotin enthält.

Nicht genügend begründet erscheint heute noch die Ansicht vom Vorkommen des Karotins in den Wurzeln von Dracaena und anderen Liliaceen, das SCHMIED aus den vorkommenden rubinroten Tröpfchen erschließt, die sich wohl mit Schwefel- und Salpetersäure, nicht aber mit Phenol-Salzsäure bläuen und nicht nach MOLISCH kristallisieren lassen. Verwiesen sei auch auf den von KELLER bei Celastrus scandens beschriebenen Farbstoff.

c) Seltenere Farbstoffe.

Prodigiosin. Die chemische Analyse GRIFFITHS, durchgeführt mit einem alkoholischen Extrakte des Bacillus prodigiosus, ergab die empirische Formel $C_{38}H_{56}NO_5$. Absorptionsstreifen in Grün und Blau. Nach ROSENBERG kann es zur Suberinfärbung benutzt werden.

Violaceïn. Der Farbstoff des Bacterium violaceum läßt sich nach MATRUCHOT gleichfalls in der Mikrotechnik verwerten. Im übrigen scheint er, das Chromogen von FUSARIUM und die Farbstoffe vieler Farbstoffbakterien zu Vitalfärbungen außerordentlich geeignet.

Farbstoff von Aposphaeria violacea n. sp. BERTEL kultivierte den auf dem Glashauslacke auftretenden violetten Pilz und studierte die Bedingungen der Farbstoffbildung. Sehr charakteristisch ist eine mit Alkalien auftretende intensive Blauviolettfärbung des im mikroskopischen Bilde braunrot erscheinenden Farbstoffes. Bei geeigneter Versuchsanstellung gelingt es auch, das Chromogen in Sphäriten abzuscheiden. Eine Identifizierung mit anderen Farbstoffen war unmöglich.

Bakteriopurpurin. Nach den Untersuchungen von LANKASTER und BÜTSCHLI ist das Bakteriopurpurin von WINOGRADSKY und ENGELMANN

untersucht worden, die eine starke Abhängigkeit des Stoffes von den äußeren Bedingungen gefunden haben. Über die Natur des Stoffes herrscht vorläufig noch vollkommene Unklarheit.

Phykoërythrin und Phykocyan, vgl. das Kapitel „Eiweiß“.

Chromatophoren der Oscillarien. Fischer isolierte die Chromatophoren der Cyanophyceen mittels Flußsäure. Hegler führt den Beweis, daß Chlorophyll und Phykocyan an die nämlichen Farbstoffträger („Cyanoplasten“) gebunden sind. Um das Chlorophyll sichtbar zu machen, verwende man Chloroformwasser. Gesättigte Lösungen von Magnesium- oder Ammoniumsulfalt, die mit Schwefelkohlenstoff oder Chloroform geschüttelt waren, zeigen das Phykocyan sehr deutlich. Vgl. A. Fischer „Die Zelle der Cyanophyceen.“

Diatomin und Phykophaeïn. Vgl. insbesondere die neuen Untersuchungen von Molisch, die die neueste Literatur über den Gegenstand kritisch behandeln und eine große Anzahl wesentlicher neuer Befunde mitteilen.

Pseudoindican. Die Cystolithen verschiedener Acanthaceen enthalten ein farbloses Chromogen, das beim Kontakt mit der atmosphärischen Luft einen intensiv blaugrünen Farbstoff liefert. Wegen des labilen Charakters ist dieser Stoff scharf vom Indigo bezw. der Muttersubstanz desselben, dem Indican, unterschieden. Molisch, der sich dem Studium beider gewidmet hat, wählte daher den Namen „Pseudoindican“. Es ist nicht unmöglich, daß dieser Stoff, oder wenigstens ein sehr nahe verwandter, auch in Lathraea vorkommt. Der Farbstoff entsteht erst nach Verletzung. Die Cystolithen reagieren alkalisch.

Scutellarin. Kocht man die Blätter von Scutellaria altissima in einprozentiger Salzsäure etwa 10 Minuten, so bemerkt man nachher, namentlich an der Unterseite der Blätter, zahlreiche weiße, mit freiem Auge deutlich wahrnehmbare Flecke von oft sternartiger Form, die sich unterm Mikroskope als dendritisch verzweigte, gewöhnlich aus Nadeln zusammengesetzte Kristallaggregate erweisen. Die Kristalle entstehen in solcher Menge, daß die Blattunterseite oft weißgrau erscheint. Beim Eintauchen eines beblätterten Sprosses in ein- bis 5prozentige kalte Salzsäure bilden sich nach 1/2 bis 2 Tagen gelbe sphärokristallinische Bildungen in Gestalt von Klümpchen, Knollen oder Warzen, die in den Epidermiszellen liegen. Kocht man die frisch gepflückten Blätter mit der zehnfachen Menge Wasser etwa 1/4 Stunde aus, so scheiden sich nach Zusatz von zirka ein- bis 2prozentiger Salzsäure zu dem filtrierten Extrakte reichlich Kristalle in Form von büschel- oder kugelartigen Drusen ab. Bei heißer Fällung treten zumeist stern-, büschel- oder besenartige Kristallaggregate von hellgelber, bei kalter Fällung hingegen gewöhnlich Sphärite von goldgelber Farbe auf. Die trockenen oder nur mit wenig Wasser befeuchteten Krystalle werden mit etwas Barytwasser momentan rostrot und kurze Zeit darauf an der Luft dunkelgrün. Durch Brom-, Chlor- oder Jodwasser entsteht die grüne Farbe nach vorheriger Behandlung mit Barytwasser sofort.

Der mikrochemische Nachweis des Stoffes gelingt besonders gut (1) mit konzentrierter rauchender Salzsäure und Beobachtung in Chloralhydrat (5 : 2), der Stoff ist dann in Sphärokristallen bis zu 0·1 mm Durchmesser ausgefallen

und 2) mit 10prozentiger Salzsäure, die ihn in büschelartigen Aggregaten ausfallen läßt. Das Scutellarin fand sich in allen untersuchten Scutellaria-Arten, in Wurzel, Stengel, Blatt und Blüte, in der Oberhaut aber am meisten, auch bei Galeopsis Tetrahit L. und Teucrium Chamaedrys L. fand es sich. Die übrigen untersuchten Labiaten gaben durchwegs negative Resultate. Die von GOLDSCHMIEDT vorläufig gefundene Formel für Scutellarin lautet $C_{21} H_{20} O_{12}$.

Andere Farbstoffe der Blätter und Stämme höherer Pflanzen. HEINRICHER fand in den desorganisierten Leukoplasten der Lathraea Squ. goldgelbe bis orangene Tröpfchen, die er für das mit 3prozentiger Salzsäure extrahierte Pigment der Lathraea hält.

MÖBIUS konnte feststellen, daß der braune Farbstoff der Vicia-Faba-Blüten mit keinem bekannten identifizierbar sei. Er gab ihm daher einen Namen: Anthophäin. Die Reaktionen des Körpers sind nicht charakteristisch.

SCHLOCKOW hat bei Oncidium sphacelatum chromatophorenähnliche Gebilde beobachtet, deren Verhalten gegen verschiedene gebräuchliche Reagentien studiert wurde. Die Natur des Farbstoffes ist noch unaufgeklärt. — GLAN beschreibt den Farbstoff der schwarzen Malve.

Farbstoffe in Samen. KRÖMER untersuchte die von TSCHIRCH in den Kaffeebohnen bemerkten „Chromatophoren“, und erkannte sie als Farbstoffkristalle. SCHRÖTTER beschreibt den Farbstoff des Arillus von Afzelia und rechnet ihn vorläufig zu den Lipochromen, wahrscheinlich liegt ein Karotin vor. Sehr interessant ist die Beobachtung, daß im Ravenala-arillus aller Wahrscheinlichkeit nach Berlinerblau die Färbung besorgt, was mit dem großen Eisengehalt gut stimmt. Indigblau ist der Farbstoff jedenfalls nicht. Gestützt wird SCHRÖTTERS Ansicht auch dadurch, daß die Ravenalasamen wie das Berlinerblau bei Sauerstoffentzug, z. B. beim Untertauchen unter Wasser, grünlich bis farblos werden und, an die Luft gebracht, sich wieder bläuen.

d) Anthokyan.

Auch bei diesem Farbstoffe kann ich mich kurz fassen, da eine umfangreiche Literaturzusammenstellung im Vereine mit eigenen Beobachtungen von BUSCALIONI und TRAVERSO erst in der jüngsten Zeit veröffentlicht worden ist. Überdies findet sich in der Botanischen Zeitung eine Arbeit von MOLISCH, worin auf die wichtigsten Arbeiten eingegangen und von der Kristallisation dieses solange jedem Kristallisationsversuche widerstrebenden Stoffes berichtet wird.

Es hat sich ergeben, daß man mit dem Worte „Anthokyan“ eine große Gruppe von Stoffen bezeichnet, die eigentlich wesentlich voneinander verschieden sind, so daß man, wie man einst von „Karotin“, jetzt von „Karotinen“, auch von Anthokyanen zu reden sich genötigt sieht. Das neue Reagens, das BUSCALIONI und POLLACCI angegeben haben, möchte ich in seiner Güte vorläufig anzweifeln

und erst die Frage aufwerfen, ob Nikotin kein alkalisch reagierender Körper ist. Ist er das, dann ist jene Grün-, Blau- oder Gelbfärbung, die man nach Angabe der beiden Autoren mit verdünntem Nikotin bei Anthokyangehalt erzielt, einfach die Indikatorfarbe des Stoffes für geringe oder größere Alkalescenz.

Chemische Natur und Auftreten des Anthokyans im Zellsafte. In dieser Richtung verdanken wir Overton wertvolle Mitteilungen. Er wies eine Proportionalität nach zwischen dem Zucker- und Anthokyangehalte der Pflanzen. Dies spricht für die Glykosidnatur des Anthokyans, wie sie schon Weigert angenommen hat.

Außerdem aber scheint auch ein Gerbstoffkomplex im Anthokyan vorhanden zu sein, wofür man vornehmlich die Parallele, die zwischen dem Auftreten anthokyanhaltiger und Gerbstoffzellen in der Pflanze besteht, dann ihr Verhalten gegen Methylenblau, Kaliumbichromat, Koffeïn und Antipyrin anführen könnte. Man kommt durch die Annahme einer Glykosid-Gerbstoffverbindung über diese Schwierigkeit am besten hinweg. Ich möchte darauf aufmerksam machen, daß heute, wo Lidforss' und Möllers Arbeiten über Glykoside und Gerbstoffe vorliegen, welche die Unmöglichkeit, sie heute mikrochemisch zu scheiden, unzweifelhaft nachweisen, Meinungsverschiedenheiten zwischen den Forschern auf diesem Gebiete ziemlich bedeutungslos erscheinen. Erst, wenn es gelingen sollte, ein eindeutiges Reagens für Glykoside oder Gerbstoffe zu finden, wird dieser Frage neuerdings mit Aussicht auf Erfolg näher getreten werden können. Man vergleiche die beiden Kapitel: „Gerbstoffe“ und „Glykoside“.

7. Gerbstoffe.

Nachweis. - Bei der Behandlung der Gerbstoffreaktion gehört in den Vordergrund des Interesses die Lidforsssche Arbeit „Über die Wirkungssphäre der Glykose- und der Gerbstoff-Reagentien“. Nachdem Lidforss gezeigt hat, daß Tannin mit Eisenchlorid eine Grünfärbung gibt, wenn man einige Kriställchen Zitronensäure zusetzt, kann man von der alten Einteilung in eisenbläuende und eisengrünende Gerbstoffe füglich absehen. Maßgebend werden immer die begleitenden Umstände bleiben, unter denen man die Gerbstoffprobe vollzieht. Auch sonst noch zeitigte die Lidforsssche Arbeit beachtenswerte Ergebnisse: Es ist unmöglich Glykosen, Glykoside und Gerbstoffe scharf zu trennen. Mit Fehlingscher Lösung ist dabei zu keinem Ergebnisse zu gelangen, da es auch viele Stoffe gibt, die weder Glykosen noch Glykoside sind und doch die Fehlingsche Lösung reduzieren. Noch größer wird die Verwirrung, da viele „Gerbstoffe“ die Membranreaktionen beeinflussen und Proteïnreaktionen

geben. Der Hilflosigkeit, in der man sich befindet, bester Ausdruck ist wohl die Redeweise: „Es ist ein Gerbstoff". Zum Schlusse empfiehlt LIDFORSS eine alkoholische Kupferlösung statt der FEHLINGschen, da man bei deren Anwendung lokalisierte Fällungen erhalte, auch extrahiere sie Nicht-Glykosen und belasse Glykosen in ihren Zellen. Man beachte auch die von WEIGERT und neuerlich von OVERTON vertretene Ansicht von der Glykosid-Gerbstoffnatur des Anthokyans (vgl. dieses).

Von nicht geringerem Interesse ist der Befund MÖLLERS von dem Gelingen der LINDTschen Phloroglucinprobe mit gerbstoffhaltigen Zellen. Er konnte direkt durch geeignete Behandlung die Gerbstoffprobe mit Eisenchlorid in die Rotfärbung mit Vanillin-Salzsäure überführen. Ich habe bereits in dem Kapitel „Phloroglucin" eingehender diese Arbeit besprochen. Vor LIDFORSS hat auch MOORE eine ähnliche Untersuchung durchgeführt und BÜTTNER die Gerbstoffreaktionen in der lebenden Pflanzenwelt eingehend untersucht und dabei festgestellt, daß außer des von PFEFFER empfohlenen Methylenblaus Eisensalze allein die Fähigkeit des zuverlässigen Gerbstoffnachweises in der lebenden Zelle besitzen und dabei der Probe eine relativ große Empfindlichkeit verleihen. Die Salze wurden in Lösungen von 0·02 bis 0·2 Prozent in Brunnenwasser verwendet. Übrigens scheint die von BERTHOLD angegebene Methode der Injektion von Geweben mit konzentrierter Kaliumbichromatlösung unter der Luftpumpe behufs Gerbstoffnachweises für viele Zwecke nicht unvorteilhaft zu sein. Die Konservierung erfolgt in konzentriertem oder 70prozentigem Glyzerin. KLERCKER empfiehlt zur Herstellung von Dauerpräparaten gerbstoffhaltiger Objekte sie in FLEMMINGS Chromosmiumsäure oder in ein Gemisch von einem Teil Pikrinschwefelsäure und einem Teil 5prozentiger Kaliumbichromatlösung oder in ein Gemisch von einem Teil Pikrinschwefelsäure und einem Teil konzentrierter Kupferacetatlösung zu legen und sonst wie üblich zu verfahren. Eine vergleichende Studie über den Nachweis der Oxycarbon-, Gallus- und Gerbsäure rührt noch von MARPMANN her.

Beim Rückblicke auf die umfassenden Arbeiten über Gerbstoffnachweis haben wir als eines der Hauptresultate die Unmöglichkeit erkannt, Gerbstoffe von Glykosiden und Glykosen scharf zu unterscheiden. Es mußte daher als ein Fortschritt betrachtet werden, als neuerdings GORIS als bestes Reagens auf Glykoside das von SONNENSCHEIN erklärte, das auf der Einwirkung eisenhaltiger Salpetersäure und Ammoniak auf glykosidhaltige Zellen beruht. Leider hat

Cazzanis Mitteilung: „Osservazioni critiche sopra alcune ricerche dell'esculina eseguite dal Dott. A. Goris" diese Hoffnung rasch zerstört. Man kann nämlich in vitro mit Tanninlösung zeigen, daß bei Behandlung mit Salpetersäure und Ammoniak dieselbe Rotfärbung auftritt, wie sie von Sonnenschein für Äsculin angegeben worden ist. Auch wird die Reaktion durch Eisenzufuhr nicht zuverlässiger, wie Goris behauptet hatte.

Somit sind wir bezüglich der eindeutigen Gerbstoffreaktionen wieder beim Alten: Es gibt auch heute noch kein Reagens, das man als spezifisch für Gerbstoffe ansehen könnte.

Anderseits hat sich die Zahl der Gerbstoffreagentien wieder um eines vermehrt, von dem man freilich noch nicht den Umfang seines Reaktionsgebietes genau abgegrenzt hat. In seinem Büchlein über Milchsaft und Schleimsaft erwähnt Molisch, daß gerbstoffhaltige Milchsäfte, mit Kalilauge erwärmt, sich rot bis blauviolett färben. Brenner hat nun, offenbar ohne Kenntnis von der erwähnten Beobachtung, diese Reaktion nochmals für Idioblasten von Fettpflanzen beschrieben; er teilt mit, daß Kalilauge die Idioblasten der unter der Epidermis gelegenen Zellschichte bläut. Natronlauge gibt die gleiche, Chlorammonium und Borax geben jedoch keine Reaktion. Bei manchen Zellen gleicher Art entstehe ein dunkelbrauner Niederschlag, der auf Gerbstoff deute. Der blau gefärbte Körper gebe dagegen Konkretionen und schließlich tiefblaue Klumpen. Brenner hält deshalb diesen sich bläuenden Körper für etwas anderes und glaubt, weil auch gewisse „Eiweißreaktionen" mit seinen Idioblasten gelingen, eine neue Eiweißreaktion beschrieben zu haben. Wenn man aber in Betracht zieht, daß Gerbstoffzellen bei Fettpflanzen lange bekannt sind, und daß Gerbstoffe auch mit gewissen Eiweißreagentien Färbungen liefern, und daß endlich Molisch für Kalilauge die Fähigkeit, Gerbstoffe blau zu färben, erwiesen hat, darf man wohl Brenner als den zweiten Entdecker der besprochenen Gerbstoffprobe bezeichnen.

Es scheint übrigens auch Solla bei den Idioblasten des Johannisbrotes die gleiche Reaktion beobachtet zu haben, ohne ihr damals noch die richtige Deutung geben zu können.

Schließlich seien noch Maneas Untersuchungen „Sur les acides gallotannique et digallique" erwähnt.

Vorkommen. Die sozusagen unendlich weite Verbreitung der Gerbstoffe macht es erklärlich, daß nur interessantere Funde Erwähnung finden können. So haben Heckel und Schlagdenhauffen bis 80 Prozent

Gallusgerbsäure bei der Myrtacee Spermolepis gummifera nachgewiesen, auch scheinen sie hier ein Gerbstoffharz entdeckt zu haben. Sie halten die harzartigen Überzüge gewisser Blattknospen der Chinagerbsäure für sehr nahe verwandt. Wallin fand bei Bromeliaceen-Blättern in den Zellen der Gefäßbündelscheiden Tröpfchen einer gerbstoffähnlichen, vermutlich einer oxyaromatischen Substanz. Molisch beobachtete in den Cystolithen der Acanthaceen einen Gerbstoff, der sich unter den Reaktionsbedingungen grün färbte, um nachher rot zu werden, was auf Eisenoxydhydratbildung durch die Wirkung des Calciumkarbonats der Cystolithen zurückzuführen ist. Nach Solla zeigen die Johannisbrotidioblasten Gerbstoffreaktion. Busse fand in den Gerbstoffschläuchen des Rindenparenchyms von Abies alba in einem ganz bestimmten Entwicklungszustand einen eisenbläuenden Gerbstoff von körniger Beschaffenheit, außerdem öltropfenähnliche Körper, die sich als schwach gerbstoffhaltig erwiesen. Die Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Jodgrün ließ die Gerbstoffzellen grün, das Meristem violett erscheinen. Auch bei Pilzen und Moosen sind Gerbstoffe nicht selten, vgl. Naumann „Über den Gerbstoff der Pilze", Czapek „Zur Chemie der Zellmembranen bei Laub- und Lebermoosen", Kindermann „Über das sogenannte Bluten der Fruchtkörper von Stereum sanguinolentum Fries", Küster „Die Ölkörper der Lebermoose und ihr Verhältnis zu den Elaioplasten". Solche Gerbstoffvorkommen pflegen in der Regel störend für gewisse beabsichtigte z. B. Membranreaktionen zu sein (vgl. Membran). Einen solchen „störenden" Gerbstoff, der die Raciborskische Leptominprobe verhindert, beschrieb Hunger in seiner Arbeit „Über die reduzierenden Körper der Oxyde- und Peroxydasereaktion". Der Sitz dieses Gerbstoffes ist im Korkgewebe, Extraktion mit 80prozentigem Alkohol macht auch in dieser Gewebeart die Leptominprobe möglich. Weitere Vorkommen von Gerbstoffen wurden beschrieben: von Molisch in Milchsäften, von Brenner bei Fettpflanzen von Tichomirow bei intrazellularen Einschlüssen gewisser Früchte etc.

Alkaloïde.

In der richtigen Erkenntnis, daß die sogenannten Alkaloïd-Gruppenreaktionen nur unter ganz besonderen Umständen verwertbare Resultate liefern, hat man den Spezialreaktionen besondere Aufmerksamkeit zugewendet. Das prägt sich denn auch durchwegs in der neueren Literatur aus. So hat Istvanffi dem Nachweis des Capsaïcins eine Arbeit gewidmet. Zum Nachweis des Stoffes verwendet er Kalilauge, Salpeter-, Schwefelsäure, Jodkalium und Salzsäure. Wegen Mangels gut ausgebildeter Chromatophoren hält er unreife Früchte für besonders geeignet zum Capsaïcinnachweis. Rosoll arbeitete über den mikrochemischen Nachweis des Coniins in den vegetabilischen Geweben, Guérin über den des Anagyrins und Cytisins, de Toni über den des Nikotins. Belzung untersuchte das Xanthin,

dessen Derivate Wévre, Schoorl wie Wévre das Atropin, Starke das Solanin und Russel das Taxin.

Auch sieht man vielfach die Tendenz auftreten, gewisse Pflanzenfamilien, die durch ihren Alkaloïdgehalt bekannt sind, nach dieser Richtung hin monographisch zu behandeln. So bilden die Solanaceenalkaloïde den Gegenstand einer Bearbeitung von Molle, die der Loganiaceen seitens Elfstrand, die der Ranunculaceen seitens Vanderlinden und eine Monographie eigener Art bildet die der Samenalkoïde von Clautriau, der auch gemeinsam mit Errera über die lokalisierte Fällung der Alkaloïde wertvolle Mitteilungen machte. Endlich haben Barth, Sim-Jensen, Hedebrand und Marpmann vom pharmazeutischen Standpunkte aus der Alkaloïdfrage größere Aufmerksamkeit geschenkt. Eine physiologische Monographie verfaßte an der Hand mikrochemischer Untersuchungen J. Feldhaus.

Die vergleichenden Reaktionsstudien haben nach Errera (Distinction des alcaloides etc.) ihre Vertreter gefunden in G. Clautriau (Nature et signification des alcaloïdes végétaux) und E. Pozzi-Essot (Contributions à la recherche microchimique des alcaloïdes).

De Wildeman und Molle scheinen bei Orchideen bezw. bei Clivia miniata neue Alkaloïde gefunden zu haben. Molisch kommt auch bei seiner Monographie des Milch- und Schleimsaftes auf die Alkaloïde zu sprechen. Man beachte auch Th. Weevers und C. J. Weevers de Graaffs Arbeit „Investigations of some xanthine derivatives in connections with the internal mutation of plants". Neu erscheint Nestlers Einführung der Sublimation für Cumarin und Theïn, über dessen Lokalisation in der Pflanze wir Suzuki Mitteilungen verdanken.

Aus den in der Übersicht angeführten Arbeiten mag das Folgende hervorgehoben sein:

Nach Molle gibt es bislang fünf gut charakterisierte Alkaloide der Solanaceen: das Atropin, Hyoscyamin, Hyoscin, Nikotin, Solanin. Als gemeinsame Reagentien für ihren mikrochemischen Nachweis gibt er an: Jodjodkalium, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid, Pikrinsäure, Tannin, Quecksilberchlorür, Platin- und Goldchlorid. Es ist dabei stets notwendig, mehrere Proben für ein Alkaloïd zu machen, da es keine für ein Alkaloïd allein charakteristische Reaktion gibt. Auch muß immer mit der schon von Zimmermann als sehr naheliegend hervorgehobenen möglichen Verwechslung mit Eiweißreaktionen gerechnet werden. Immerhin erweist sich die Methode von Errera als brauchbar, um einem Irrtume vorzubeugen. Legt man die Schnitte vor der Reaktion in Weinsäurealkohol (1 g kristallisierte Weinsäure, gelöst in 20 cc abs. Alkohol) und unterbleibt die Reaktion mit Phosphormolybdänsäure, so deutet dies auf ein Alkaloïd,

— andernfalls kann eine Proteïnsubstanz vorliegen. Auch ELFSTRAND hielt sich an ERRERAS Methoden. Er findet für Strychnin am besten MANDELINS Reagens geeignet, Brucin wird damit gelbrot. Auch Gelsemin und Gelseminin können damit nachgewiesen werden, desgleichen Coniin Für Curarin eignet sich aber am besten Vanidinschwefelsäure. — Um im reifen Samen von Datura Stramonium das Alkaloïd nachzuweisen, läßt CLAUTRIAU Jodjodkalium zu einem trockenen Schnitte langsam zufließen. Alsbald füllen sich die Schichten der Samenschale mit einem massigen tiefbraunen Niederschlage, der bisweilen kristallinisch wird. Am allgemeinsten anwendbar ist nach ihm Jodjod-Kalium. Nach BARTH sind für den mikrochemischen Nachweis von Alkaloïden am allerwenigsten die flüssigen Reagentien geeignet, dagegen sehr gut die gasförmigen wie Jod-, Brom- und Salzsäuredampf. Bettet man dann auch noch in reinem weißen Paraffinöl ein, so erhält man vorzügliche Präparate lokalisierter Fällung. Einen mittleren Wert besitzen für mikrochemische Zwecke die Färbungen, doch gibt Vanidinschwefelsäure mit Strychnin ganz brauchbare und die nachträglichen Färbungen wie die mit Rhodankalium und verdünnter Eisenchloridlösung ganz prachtvolle Resultate. Eine Bestätigung haben BARTHS Untersuchungen durch SHM-JENSEN erfahren, von dem außerdem Jodjodkalium und Kaliumwismutjodid neben dem von ihm eingeführten Bromkalium besonders empfohlen werden. Das Bromkalium übertreffe Bromwasser um das drei- bis vierfache an Empfindlichkeit und hätte den Vorzug vorzüglicher Lokalisation für sich. Von hervorragender Bedeutung für das Gelingen der Reaktion sei der von SHM-JENSEN verwendete Wachsabschluß des Deckgläschens.

Daß übrigens die oben von BARTH als ziemlich untergeordnet erklärten Farbenreaktionen unter gewissen Umständen ganz ausgezeichnete Resultate zu liefern vermögen, beweisen RUSSELS Untersuchungen über das Taxin, in denen sich MANDELINS Reagens und Schwefelsäure mit Ammoniumvanadat als höchst geeignet erwiesen haben, um das Taxin in lokalisierter hellroter Färbung sichtbar zu machen.

Nach MOLISCHS Angaben über Alkaloïdnachweis läßt bei Milchsäften 10prozentige Salzsäure den Milchsaft geradezu zu einem Kristallbrei erstarren.

Kristallisation. BELZUNG gelang es, aus einem Extrakte von Cicer arietinum-Keimlingen das Xanthin in undeutlich kristallinischer Form darzustellen.

Die beste Orientierung über die Versuchsanstellung bei Alkaloïdreaktionen und die Unterscheidung der einzelnen Alkaloïde voneinander gibt wohl der Abschnitt (Pflanzenalkaloide) in BEHRENS' Anleitung zur mikrochemischen Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen. 3. H. 1896, p. 46—133.

9. Eiweiß.

Die bekannten Eiweißreaktionen unterzog WÉVRE einer neuerlichen eingehenden Überprüfung, deren Erfolg in übersichtlicher Weise

in A. ZIMMERMANNS Referat in dieser Zeitschrift Bd. XI, 1894, p. 407 bis 410, dargestellt ist.

Hier sei nur erwähnt, daß auch von WÉVRE zur Fällung der Eiweißstoffe der absolute Alkohol, zur Extraktion der Alkaloïde ERRERAS 5prozentige Weinsäure in Alkohol am geeignetsten angesehen wird, daß nach ihm unter allen Reagentien auf Eiweiß Jodjodkalium als das empfindlichste und Eosin unter allen Farbstoffen als bestfärbender gilt. Aus der Zahl der mikrochemischen Eiweißreaktionen sind die mit Tannin, Goldchlorid, Salzsäure und JORISSENS Reagenz auszuscheiden. Damit erscheint auch MESNARDS Mitteilung von der Violettfärbung von Eiweiß durch Salzsäure und das Rosawerden der Propeptone durch das gleiche Reagens erledigt. Eine vergleichende Untersuchung der Eiweiß- und Tyrosinreaktionen rührt von WURSTER her.

Besondere Erwähnung verdient die Arbeit O'BRIENS über Eiweiß. O'BRIEN ist es gelungen, aus Weizenmehl künstliche Eiweißkristalle zu erzeugen, indem er das in Kochsalzlösung gelöste Globulin durch Alkohol fällte und den Niederschlag mit verdünntem Alkohol auswusch, dann wieder in Salzsäure auflöste und von dieser Lösung einen Tropfen auf dem Objektträger verdunsten ließ. Es bildeten sich hexagonale Platten von Globulin. Tanninlösung diente zur Fixierung. Übrigens hat ein Jahr vor O'BRIEN MOLISCH das Phykoerythrin zur Kristallisierung gebracht hat, das sich als Eiweißstoff herausstellte (vgl. Phykoërythrin).

Als Eiweißreaktion wurde jüngst von BRENNER die bei Sukkulenten auftretende Blaufärbung einiger Zellen durch Kalilauge gedeutet, da auch die RASPAILsche Reaktion mit diesen Idioblasten gelingt. Weil jedoch auch Gerbstoffe nach LIDFORSS Proteïnreaktionen geben, und BRENNER selbst von der deutlichen Reaktion mit LINDTschem Reagens Mitteilung macht, das erst neuerdings von MÖLLER wieder auch als Gerbstoffreagens betont wurde, dürfte es sich hier umsomehr, als MOLISCH bereits in seinem Milchsaftbüchlein die Blaufärbung mit Kalilauge als Gerbstoffprobe angegeben hat, um einen Gerbstoff handeln.

Besondere Fälle von Eiweißproben führen HARTWICH und IKEDA an, von denen der erste bei Strophantus-Samen mit Schwefelsäure allein proportional zu deren Verdünnung alle Farbentöne von Grün über Rot nach Blau erhielt, der zweite in der Samenknospe von Liliaceen mit FEHLINGS Lösung Biuret-Reaktion, aber keine Zuckerprobe bekam.

Zum Schlusse sei auf das von TICHOMIROW beobachtete Vor-

kommen von Eiweiß in intrazellulären Einschlüssen der Datteln etc. hingewiesen.

Eiweißkristalle und Eiweißkristalloïde. 1) Cytoplasma oder Zellsaft. Es ist eine allbekannte Tatsache, daß in den der Peridermschichte der Kartoffelknolle unmittelbar anliegenden Zellschichten prachtvolle würfelförmige Eiweißkristalle vorkommen. Heinricher konnte ein massenhaftes Auftreten von Kristalloïden in den Laubtrieben von Solanum tuberosum feststellen. Auch fand er derartige Gebilde außerhalb des Zellkernes bei Lathraea squamaria. Bei Epiphyllum waren sogar ringförmige Kristalloïde von Molisch beobachtet worden. Da Wakker einen gleichen Befund nachher als neu beschrieb, wurde von Molisch die geschichtliche Folge der diesbezüglichen Entdeckungen genau fixiert.

Beim Nachweis der Eiweißkristalle und Kristalloide spielte stets Zimmermanns Säurefuchsingemisch eine hervorragende Rolle, Huie verweist demgegenüber auf Manns Fixierungsgemisch und auf ein von ihr verwendetes Rezept, die angeblich beide den Vorzug verdienen. Nach Molisch finden sich Unmengen von Proteïnkristallen im Milchsafte von Musa chin., jeder von einer eigenen feinen Membran, von Molisch „Proteïnoplasten" genannt, umgeben. Noll beschrieb geformte Proteïden im Zellsafte von Derbesia. Eine eingehende Behandlung haben die Reaktionen auf Proteïnkristalle erst jüngst wieder durch Milroy erfahren.

2) Zellkern. A. Zimmermann hat mit seinen bekannten Färbemethoden eingehende Studien über das tinktionelle Verhalten der Zellkernkristalloïde angestellt. Nach Auerbachs Nomenklatur muß man sie als typisch erythrophil bezeichnen, soweit nach Fischer diese Bezeichnung noch gelten darf.

Neuerlich hat Molisch auch in den Blasenkernen, die er im Musa-Milchsaft vorfand, oft mehrere Kristalle einer eiweißartigen Substanz feststellen können. Sperlich macht mit Eiweißkristalloïden in den Zellkernen der Haustorien von Melampyrum pratense und M. silvaticum bekannt, die nach Zimmermann färbbar sind.

Aleuron und seine Kristalle und Kristalloïde.

Da die Zahl der dauerhaften Kristalloïdfärbungen nicht allzu zahlreich ist, scheint die Anführung einer neuen nicht überflüssig, so hat Krasser Pikrinsäure-Eosin und Pikrin-Nigrosin als besonders vorteilhaft angeführt. Gram teilt neuerdings seine Erfahrungen mit den gewöhnlichen Fixierungs- und Färbemethoden an den Proteïnkörnern der Ölgewächssamen mit. Er hält Pfeffers Härtungsmethode mit Sublimatalkohol für unzweckmäßig. Oft sei dagegen Pfeffers Natriumphosphat gut verwendbar. Dauerpräparate stelle man am besten nach Poulsens Methode her. Zur Färbung eigne sich besonders Boraxweinstein. Hervorgehoben sei noch die Arbeit Reeds: „A study

of the enzymesecreting cells in the seedlings of Zea Mays and Phoenix dactilifera", in der er die Fixierungs- und Färbemethoden einer eingehenden kritischen Nachprüfung unterzieht und findet, daß proportional zur Säuremenge des Fixierungsmittels die Eiweißkörner besser erhalten bleiben, und daß MANNS Eosin-Toluidinblau-Methode den übrigen Färbeverfahren vorzuziehen sei. Auch MANNS Pikrin-Sublimatlösung sei sehr empfehlenswert.

Zum Einbetten von Aleuronkörnern werden gewöhnlich fette Öle empfohlen. WINTON fand nun bei seinen Untersuchungen über Hanfsamen Terpentin für diese Zwecke besonders geeignet.

Zum Schluß sei auf einen neuen Einschluß des Aleuronkorns aufmerksam gemacht, dessen Entdeckung wir MEYER verdanken: Mit Alkohol-Methylenblau-Schwefelsäure gelingt es nämlich über den Globoiden Volutinkörner nachzuweisen.

Eine eingehende Untersuchung über Aleuronkörner haben auch TSCHIRCH und KRITZLER veröffentlicht, die im wesentlichen ergab, daß die Aleuronkörner der untersuchten Pflanzen hauptsächlich aus Globulinen bestehen, ob sie auch Albumosen enthalten, ist derzeit noch fraglich. Die Kristalloide bestehen mindestens aus zwei Globulinen. Über die verschiedenen Lösungsverhältnisse der Stoffe sehe man die Arbeit nach.

Besondere Vorkommen von Eiweißkörnern und Eiweißleisten. Eiweißkörner beobachtete ZIMMERMANN bei Tradescantialeukoplasten („Leukosomen"). Mit MILLON und mit Salpetersäure reagieren sie ganz entschieden, und Öl, Stärke und Gerbstoff sind sie gewiß nicht.

Für Eiweißleisten hält NESTLER die leistenförmigen Bildungen in den Blasenzellen von Antithamnium Plumula. — HEGLER wie KOHL sehen die Cyanophycinkörner der Cyanophyceen für Eiweißkörper an.

Phykoërythrin und Phykocyan. Schon KLEIN hat auf die Tatsache aufmerksam gemacht, daß man durch Einlegen von Rhodophyceen in Kochsalzlösungen oder Weingeist prachtvolle intensiv rotgefärbte Kristalle erhalten kann, die nach MOLISCH als „Phykoërythrinkristalloide" anzusehen sind. HANSEN hat sich bemüht, eine Darstellungsmethode des Phykoërythrins zu ermitteln. Als er eine wässerige Lösung auf flachen Tellern in dünner Schicht bei 35° bis 40° eindampfte, erhielt er in der Tat spröde Blättchen, die die ursprüngliche Farbe vollständig bewahrt hatten, in Wasser aber unlöslich waren: daher soll das Phykoërythrin in den Chromatophoren als Eiweißverbindung vorhanden gewesen und als solche ausgezogen worden sein. Außer bei Florideen fand HANSEN das Phykoërythrin auch bei Bryopsis disticha, wo Alkohol die Kristallisation bewirkt, bei der Floridee Liagora genügt bereits mechanischer Druck dazu. Aus Taonia und Dictyota bereitete er sich mit destilliertem Wasser ein rotes Phykoërythrinextrakt. Auch BRUNS hat öfters

Phykoërythrinkristalle aufgefunden, wie bei Nemastoma cervicornis und Wrangelia penicillata, bei denen ihm durch konzentrierte Kochsalzlösung, einprozentiges Formalin die Kristallisation gelang.

Die eingehendste Untersuchung, die über die vermutete Eiweißnatur dieser Kristalle gar keine Zweifel mehr läßt, ist MOLISCHS Abhandlung über „Das Phykoërythrin". Gibt man eine lebende Rotalge in 10prozentiges Natriumchlorid, dem einige Tropfen Schwefelkohlenstoff zugesetzt sind, so kristallisieren hexagonale Kristalle des Phykoërythrins mit geringer Doppelbrechung und ohne Pleochroismus aus. Sie sind unlöslich in Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Oliven- und Terpentinöl. Nur anfangs sind sie in Wasser löslich, später nicht mehr. Die Eiweißreaktionen gelingen alle. Durch plötzliches Erhitzen auf 100° C. werden sie unlöslich, ebenso nach Behandlung mit Alkohol, sie sind durch Kochsalz, Ammonium- und Magnesiumsulfat aussalzbar. — Durch Lösen in destilliertem Wasser bei 35° C. im Dunkeln, Filtrieren, Fällen mit Alkohol, wieder Lösen usw. und Abdampfenlassen der reinen wässerigen Lösung auf dem Objektträger gelingt auch die Kristallisation außerhalb der Pflanze.

Nach MOLISCH kann der Ausdruck CRAMERS Rhodosperminkristalle wegfallen: sie sind entweder Phykoërythrin-, oder, wenn farblos, Proteïnskristalle; vgl. auch im Lit. Verz. die einschl. Arbeit NOLLS.

Ebenso gelang es MOLISCH aus der durch Extraktion von Oscillaria leptotricha im Dunkeln erhaltenen Farbstofflösung durch Aussalzen mit Chlornatrium-, Chlorkalium- und Magnesiumsulfat das Phykocyan zur Kristallisation zu bringen. Nach den Untersuchungen von BECKE dürften die Kristalle dem monoklinen Systeme angehören und die Kombination eines Prismas mit einem Klinodoma darstellen. Sie sind prachtvoll indigblau, in Wasser quellbar, löslich in Wasser, Glyzerin, verdünnten Alkalien, unlöslich in Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff und verdünnten Säuren. Mit Salpetersäure (1 Vol. Säure + 1 Vol. Wasser) werden die Kristalle unter Abrundung schön karminrot, dann gelb, eine Farbe, die bei Zusatz von Ammoniak sehr intensiv wird. MILLONS Reagens färbt purpur-, dann ziegelrot. Bromwasser entfärbt. Auch die farblosen Kristalle geben die Eiweißprobe. Jod, Eosin, Fuchsin, Gentianaviolett werden gierig aufgenommen. Bei Berücksichtigung aller dieser Eigenschaften ist es zweifellos, daß das Phykocyan ein kristallisierbarer Eiweißkörper ist. — Später fand MOLISCH in der konzentrierten Essigsäure ein vorzügliches Mittel, sich über die Verteilung des Phykocyans im Innern der Zellen zu orientieren. Eisessig entzieht nämlich den Oscillarien das Chlorophyll und den gelben Farbstoff, und so bleibt das Phykocyan allein in ihnen übrig.

Pyrenoide. Nach MITROPHANOW erweist sich zur Färbung von Diatomeenpyrenoiden als sehr zweckmäßig Rubin-Orange-Methylgrüngemisch. ZACHARIAS empfiehlt ganz allgemein zur Pyrenoidfärbung essigsaure Glaubersalzlösung, Fuchsin S und für Euglenen soll nach DANGEARD Rubin S und Coccinin sehr gut sein. Gegen energische Mittel wie das MILLONsche Reagens zeigt sich die sog. „Pyrenoidmembran" besonders widerstandsfähig; da die Chromatophoren bei dieser Behandlung ganz oder teilweise zerstört werden, treten, wie BOUBIER gefunden hat, die Pyrenoide sehr deutlich hervor. Das Kristalloid ist von einer hyalinen Zone umgeben,

die durch Lösung der Stärke zustande kommt, von der sich mit deutlichen doppelten Konturen die Pyrenoidhaut abhebt. Die gleiche Widerstandsfähigkeit gegen MILLON zeigen auch die schon von NÄGELI bei Spirogyra beobachteten Leisten, die den Namen „Pyrenoidbänder" erhalten haben. Außer bei Spirogyra wurden sie auch bei Mougeotia scalaris nachgewiesen.

Das LÖW-BOKORNYsche Reagens auf „aktives Albumin". Eine Art Abschluß ihrer Untersuchungen über aktives Albumin stellt LÖWS und BOKORNYS Arbeit „Zur Chemie der Proteosomen" dar, in der sie die Unterschiede zwischen aktivem und passivem Eiweiß angeben.

Aktives gerinnt mit 10prozentigem Alkohol, passives nicht.
„ wird mit verdünntem Ammoniak gebunden, passives ist demgegenüber indifferent.
„ ist unlöslich in konzentriertem Ammoniak, koaguliertes löst sich darin.
„ reduziert alkoholische Silberlösung, passives nicht.
„ verliert durch verdünnte Säuren dieses Reduktionsvermögen sehr rasch.

Daß LÖW-BOKORNYS Hypothese eine vielfache Berichtigung erfahren hat, ist schon aus ZIMMERMANNS Mikrotechnik, pag. 237, ersichtlich, nur soll noch KLEMMS Befunden in dieser Richtung gedacht sein. Die von LÖW-BOKORNY angegebene Silberausscheidung hätte darnach mit dem hypothetischen aktiven Albumin gar nichts zu tun, sondern könne jederzeit mit Gerbsäure, Koffeïn oder Ammoniak und Silberlösung nachgeahmt werden.

Lecithin. B. v. BITTÓ, Estimation of lecithin in plants. Diese Z. 1896, Bd. XIII, pag. 556 und STOKLASA „Lecithin in der Pflanze."

10. Kern, Nukleïn, Plastin, Volutin etc.

Als Vorläufer seines Buches über „Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes" könnte man die diesbezüglichen Ausführungen ZIMMERMANNS in seiner Mikrotechnik bezeichnen. Mit dem Erscheinen des oben genannten Buches war endlich die Möglichkeit gegeben, die unendlich angeschwollene Kernliteratur zu überblicken und an der Hand der Ausführungen dieses geübten Mikrotechnikers die notwendig gewordene Sichtung durchzuführen. Seit 1896, dem Erscheinungsjahre dieses Werkes, haben sich die Kenntnisse über den Kern bedeutend vermehrt und sind auch in mehr als einer Richtung bedeutend vertieft worden. Weiterhin hat sich KÖRNICKE der großen Arbeit einer kritischen Behandlung der neueren Literatur über den Kern unterzogen, wobei er die Abhandlungen bis 1903 einschließlich berücksichtigt hat.

Wenn ich trotz der Literaturzusammenstellung KÖRNICKES, die mit der Anführung der Arbeiten ja gleichzeitig das Mittel an die

Hand gibt, sich in diesen über die verwendeten mikrochemisch-mikrotechnischen Methoden zu orientieren, noch einiges erwähne, so geschieht dies lediglich deshalb, um auf besonders bewährte, neu eingeführte Untersuchungsarten hinzuweisen, oder Mikrochemisches über den Kern wieder aufzufrischen oder, um an Werke zu erinnern, die als grundlegend für die zu verwendenden Methoden zu betrachten sind.

So hat v. Wasielewski die verschiedenen Fixierungsmittel genau überprüft und dabei das Brauchbare vom Unbrauchbaren zu sondern sich bemüht. Eine derartige Untersuchung war gerade in dem Erscheinungsjahre am Platze, da A. Fischer in seinem Buche „Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas“ zu einer Schlußfolgerung kommt, die geeignet erscheint, die ganze Mikrotechnik in Frage zu stellen. „Die neuere Zellforschung, besonders die Mitosenlehre, ist genau betrachtet, nichts anderes als die Untersuchung ausgewählter Fällungsbilder nach Fixierung mit Flemmingscher und Hermannscher Lösung, ergänzt durch einige andere Mittel, deren Erfolge aber auch nach den Bildern der genannten Gemische zurechtgestutzt werden.“

Ist nun zwar mit diesem vernichtenden Urteile über die Bestrebungen der Mikrotechniker etwas über das Ziel hinausgeschossen, so kann man es dennoch begreifen, wenn man in Fischers Buche nach dessen logischen Prämissen Umschau hält. Eigentlich genügt es, bloß die Abbildungen p. 37, 45, 210 und besonders p. 222 zu betrachten, und man wird eine ganze Menge bei den verschiedensten Organismen „neu entdeckter Granula“ als Niederschlagsbestandteile wieder erkennen. Ein Blick auf diese Bilder und eine Unzahl aufsehenerregende Plasmastrukturen stellen sich als bloße Kunstprodukte dar. In den engeren Rahmen dieses Referates gehören Kapitel III, das sich mit der Fällungsform einzelner, Kapitel IV, das sich mit der von mehreren Eiweißkörpern in Mischung beschäftigt, und Kapitel V, das auf den Nachweis der Albumose und der Nukleïnsäure genauer eingeht. — Durch seine Beobachtungen fand sich Fischer veranlaßt, der physikalischen Farbstofftheorie das Wort zu reden, der sich Miehe, Arnoldi und andere Autoren angeschlossen haben.

Dagegen scheint Zacharias noch an der Möglichkeit festzuhalten, Nukleïn als solches durch Farbstoffreagentien festzustellen, um auf seine Verbreitung zu schließen. Wenigstens spricht die Anführung von Fuchsin S in essigsaurem Glaubersalz zur Unterscheidung nukleïnhaltiger von nukleïnfreien Teilen der Spermatozoën der Characeen und gewisser Tiere viel für ein Beharren bei seinen früheren An-

schauungen. Dagegen scheinen die von ihm bei fixiertem Materiale im Kernraume beobachteten Fasern Kunstprodukte im Sinne FISCHERS zu sein.

Ein angeblich sehr gutes mikrochemisches Reagens auf Nuklein, das sich an die von ZACHARIAS empfohlenen anschlösse, ist nach v. WISSELINGH 50prozentige Chromsäure. Gegen diese ist das Kerngerüst sehr lange widerstandsfähig, löst sich aber später wie das Plasma und läßt die Nukleolen übrig, die nun für sich wieder ein Fadengerüst zeigen, das noch bleibt, wenn die Wand bereits in Lösung gegangen ist. Auch Glyzerin läßt sich in ähnlicher Weise verwenden. Interessant ist auch MEYERS Anschauung von der Natur des von ihm entdeckten und beschriebenen Volutins als Nukleïnkörper.

Eigens über das Vorkommen des Nukleïns zu sprechen, dessen große Verbreitung bekannt ist, scheint unpassend, darum mag diesbezüglich in KÖRNICKES Sammelreferat nachgesehen werden.

Volutin und die metachromatischen Körperchen. GUILLERMOND beschreibt leicht färbbare Körperchen, die als metachromatisch bezeichnet wurden. Zu ihrer Darstellung empfiehlt er Pikroformol und Polychromblau. VILLARD hat bei Zoochlorellen diese metachromatischen Körnchen gleichfalls nachgewiesen. Nach A. MEYER sind die von ihm beschriebenen Volutine identisch mit GUILLERMONDS metachromatischen Körperchen, es soll eine Nukleïnverbindung vorliegen. Ebenso hält MEYER die von KOHL bei Schizophyceen beobachteten „Zentralkörner" für Volutin und die HANSTEENschen „Fukosankörner" der Braunalgen enthalten es nach seiner Meinung wenigstens zum Teil. Am klarsten differenziert sich das Volutin mit MEYERS Formol-Methylenblau-Schwefelsäure-Methode, die auf der Wirkung der Schwefelsäure beruht, alle übrigen eventuell gefärbten Zellbestandteile zu entfärben. Denn nur das Volutin hält unter solchen Bedingungen die Farbe.

Bei Pinnularia radiosa scheinen Volutinsphärite vorzukommen. Auch macht es den Eindruck, als ob es mehrere Volutine gäbe. So fand MEYER bei Mougeotia sp. einen Stoff, der in der lebenden Zelle mit Methylenblau tiefblaue tropfenförmige Ausscheidungen lieferte: MEYERS l-Volutin; bei Achlya Körner, die sich mit Methylenblau färben, quellen und sich in eine leichtflüssige tiefblaue Lösung verwandeln: MEYERS β-Volutin.

Plastin. Das von REINKE dargestellte Plastin, dessen Reinheit übrigens von LÖW bestritten wurde, hat ZACHARIAS mikrochemisch zu charakterisieren versucht und die Ansicht ausgesprochen, daß es die Grundsubstanz des Cytoplasmas sei. Er teilt nun neuerdings mit, daß auch die von ihm im Kernraume beobachteten Spindelfasern in bestimmten Fällen Plastin enthalten können.

11. Fermente und Enzyme.

Myrosin. GUIGNARD gibt konzentrierte Salzsäure, die auf 1 cc einen Tropfen einer 10prozentigen wässrigen Orcinlösung enthält, als Reagens auf myrosinhaltige Zellen an. Er stellte damit fest, daß die von HEINRICHER als Eiweißidioblasten beschriebenen eigenartigen Zellen vieler Kruziferen Myrosin enthalten. SPAZIER kommt nun bei seinen Untersuchungen „Über das Auftreten und die physiologische Bedeutung des Myrosins in der Pflanze" zu der Anschauung, daß es in den vegetativen Organen stets in gelöster, in den Samen aber stets in körniger Form enthalten sei. Die Körnchen des zweiten Vorkommens bezeichnet er als „Myrosinkörner". Sie sollen den Aleuronkörnern sehr ähnlich sehen, doch sind sie stets farblos, stark lichtbrechend und einschlußfrei, auch leicht löslich in Glyzerin und sehr leicht löslich in Wasser.

Emulsinkörner. Bei Amygdaleen-Samen fand SPAZIER in den Prokambialsträngen Körner, die er Emulsinkörner nennt. Auch bei ihnen fehlen Einschlüsse völlig. Durch Guajakharz erzielte er in den Emulsinkörnerzellen intensive Blaufärbung, weshalb er in ihnen den Sitz der Spaltung des Amygdalins vermutet. Somit tritt diese Guajakreaktion ergänzend zu den von GUIGNARD angegebenen mit MILLON und Kupfersulfat-Kalilauge.

Diastase. Gibt man pflanzliche Objekte zunächst in eine alkoholische dunkelbraune ätherfreie Lösung von Guajakharz und nach dem Verdunsten des Alkohols in eine mehr oder weniger verdünnte Lösung von Wasserstoffsuperoxyd, so wird die mit Guajak durchtränkte gefällte Diastase prächtig blau gefärbt und in Wasser unlöslich. Diese Reaktion ist von GRÜSS eingeführt und ein Jahr darauf für Keimungsstudien verbessert und als Diastasereaktion gedeutet worden.

Leider gibt es eine ganze Anzahl anderer Substanzen, die sich sehr ähnlich verhalten (vgl. Leptomin) und noch unsicherer wird die Reaktion dadurch, daß es Stoffe gibt, die, trotzdem Diastase vorhanden ist, ihren Nachweis unmöglich machen, z. B. Sauerstoffübertrager, Eiweiß und Gerbstoffe. GRÜSS hat nun mit seinem neuen Reagens zunächst festgestellt, daß die Diastase nicht in die Masse des Kornes einzudringen vermag, sich vielmehr bloß im bezw. in der unmittelbarsten Nähe des Lösungskanals befindet. Auch zum Studium der Physiologie der Keimung sei es außerordentlich verwendbar, wenn es sich um die Stärkekörner handle, ja auch bei der Untersuchung der Wirkung diastatischer Fermente auf Zellhäute leiste es vortreffliche Dienste. Eine zweckmäßige Kontrolle sei dabei durch die Anwendung von Kongorot gegeben, das bloß die unangegriffenen Stellen färbe und so auf rotem Grunde die farblosen Angriffsstellen deutlich hervortreten lasse. (Merkwürdig, daß sich Präparate von Mais gegen Kongorot gerade umgekehrt verhalten.)

Wie oben angedeutet, mußte es schließlich zu einer Auseinandersetzung zwischen dem Entdecker der Diastase- und dem der Leptominreaktion kommen. So hat denn auch GRÜSS auf Grund der Tatsache, daß von SCHUCHARDT gelieferte Diastase mit frischer Guajaklösung befeuchtet und dann in Wasserstoffsuperoxyd gegeben (RACIBORSKIS Probe) eine Bläuung

zeigt, den Schluß gezogen, daß RACIBORSKIS Leptomin lediglich katalytisch wirkende Diastase sei. Die Antwort RACIBORSKIS lautete dahin, daß GRÜSS mit Leptomin verunreinigte Diastase von SCHUCHARDT erhalten haben möge.

Oxydasen und Peroxydasen. Das günstigste Material zum Nachweise oxydierender Enzyme im Körper höherer Pflanzen bildet nach GRÜSS solches, das von Parasiten, wie der Mistel heimgesucht ist. Als Reagens wird Tetramethylparaphenyldiaminchlorid empfohlen. Damit färbt sich das befallene Holz schwach, die Rinde stark. Die den Tracheiden anliegenden Zellen bleiben gelbgrün, färben sich aber mit Guajak und H_2O_2 stark blau.

Behandelt man zuerst mit Azeton, Ätherazeton und Glyzerin und dann mit Guajak, so kommt der Sitz der Aminoxydase zutage. Die Sklerenchymzellen, die verholzten Stränge und das Kambium zeigen von deren Anwesenheit. Azeton unterdrückt somit nicht die Oxydasereaktion.

Fermente und Enzyme im allgemeinen. Es sei auch noch auf die Arbeit DASTRES über die Extraktion endozellulärer Fermente durch Chloroform verwiesen.

Reduzierende und oxydierende Substanzen. CZAPEK gibt ammoniakalische Silbernitrat-Lösung an als Mittel, mit dem man bei geotropisch gereizten Wurzeln im Vergleiche zu ungereizten eine Vermehrung reduzierender Substanz nachzuweisen imstande ist. Der Nachweis der Verminderung der Sauerstoff leicht abgebenden Substanz gelingt dagegen gut mit Guajaktinktur, Indigweiß und α-Naphtol-Paraphenyldamin.

12. Indol.

HESSE hat in jüngster Zeit festgestellt, daß man auch die geringsten Mengen von Indol in gewissen pflanzlichen Parfums des Handels nachzuweisen vermöge mittels Zusatz von Pikrinsäure zu den weniger flüchtigen Substanzen und durch die charakteristischen Farbenerscheinungen am Indolpikrat. Die verwendeten Pflanzenparfums stammten von Jasminum grandiflorum und Citrus Bigaradia.

VERSCHAFFELT gibt nun die Oxalsäure wegen der sehr charakteristischen rosa bis violetten Farbentinten, die nach M. J. GUERDA beim Überstreichen von Indoldämpfen über Oxalsäure entstehen, als treffliches makro- und mikrochemisches Reagens auf Indol in Pflanzendüften an. Wesentlich für das Urteil, ob Indol vorhanden ist oder nicht, ist die Verwendung lebender Blüten zur Reaktion.

1) Versuchsanstellung: Auf den Grund eines Glastrichters oder einer Kristallisierschale gibt man einen Wattebausch oder besser Glaswolle, die mit konzentrierter Oxalsäure getränkt ist und darüber, getrennt durch ein Stückchen Glas, eine frisch aufgebrochene Jasminblüte. Nach $^1/_2$ bis 1 Stunde beginnt die Rotfärbung des Bausches von der Blüte her. Die Farbe vertieft sich vom Rosa bis ins Violett. Nach einigen Stunden ist die Färbung bis ins Innere des Pfropfens vorgedrungen.

2) Versuchsanstellung: Mit Hilfe einer Stütze und einer Klemmschraube wurde über die blühende Trugdolde des Jasmins eine Kristallisier-

schale mit oxalsäuregetränktem Glaswollenbausche gestülpt. Schon nach kurzer Zeit konnte festgestellt werden, daß nun die Blüten in dem oben angegebenen Sinne sich verfärbten in Farben, die auch mikroskopisch deutlich wahrgenommen werden konnten.

Beurteilung der Reaktion: Zwar Gruppenreaktion auf das Indol und seine Verwandten, kann sie bei Blüten auf Grund der chemischen Analysen, die stets Indol, nie aber seine Verwandten anzeigten, als Indolreaktion gelten und in die Mikrochemie als solche aufgenommen werden. — Reaktionspflanzen: Von allen untersuchten Blüten gaben nur die des Jasmins und des Goldregens die Reaktion. (Erhärtet durch Hesse und Verschaffelt.)

13. Varia.

Die Cyanophycinkörner, Zentralkörper und Zentralkörner der Cyanophyceen. Die sogenannten Cyanophycinkörner sind wiederholt Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen gewesen. Macallum teilt mit, daß sie sich mit Pikrokarmin färben, Hegler schließt auf Grund der durchgeführten Reaktionen auf Eiweißnatur der Körner und Kohl erklärt sie geradezu für Eiweißkristalloide im Cytoplasma Nach seinen Beobachtungen sind besonders Säurefuchsin-Anilinwasser und Zimmermanns Säurefuchsinmethode zur Färbung zu empfehlen. Hieronymus will sie mit den von Schmitz beobachteten Schleimkugeln identifizieren. Von den Cyanophycinkörnern sind die Zentralkörner scharf zu unterscheiden. Während nämlich jene im Cytoplasma vorkommen, ist der Platz dieser im Zentralkörper. Kohl betont als deren Charakteristikon: 1. Blaufärbung mit Molybdänschwefelsäure und 2. große Widerstandsfähigkeit gegen Eau de Javelle und Ameisensäure. A. Meyer erklärt sie für Volutinkörner.

Zur Sichtbarmachung des Zentralkörpers sind nach Hegler stark reduzierende Fixierungsmittel nötig, nach Kohl ist besonders Eau de Javelle dazu geeignet.

Fischer definiert den Zentralkörper als den vom Chromatophor umschlossenen Hauptteil des Protoplasten, den Zentralkörper Bütschlis bei schwefelfreien Bakterien dagegen als kontrahierten Protoplasten und die Kapseln als Kunstprodukte, entstanden durch an der Basis verquollene Geißeln. Es sei unberechtigt, die Färbbarkeit der Bakterien mit Kernfarbstoffen zu sehr hervorzuheben. Verdauungsversuche könnten über die Kernnatur des Zentralkörpers der Cyanophyceen keinen Aufschluß geben, da die verwendete Pepsin-Salzsäure bereits „enzymatische Kontraktion" hervorrufe. Man beachte auch die neueste Arbeit von Fischer.

Die sogenannten Gasvakuolen. P. Richter hatte in Gloiotrichia echinulata unter dem Mikroskope rötlich erscheinende Inhaltskörper beobachtet und für Schwefel angesehen. Klebahn sprach sie in seiner Arbeit „Gasvakuolen, ein Bestandteil der Zellen der wasserblütebildenden Phykochromaceen" als Gas an, ohne jedoch die wichtige Frage zu beantworten, welches Gas vorliege. Nur welches es nicht sei, konnte er mit

Bestimmtheit sagen. Das Gas sei weder Kohlensäure noch Sauerstoff. Seiner Vermutung nach könne am ehesten an Luft oder an Stickstoff gedacht werden. Daß überhaupt kein Gas vorliegt, zeigt die Arbeit von MOLISCH. Schon BRAND hatte die Vermutung ausgesprochen, mit KLEBAHNS Gasvakuolen müßte es eine andere Bewandtnis haben, den Beweis dafür hat erst MOLISCH gebracht. Es kann heute gar keinem Zweifel mehr unterliegen, daß die „Gasvakuolen“ keine Spur von „Gas“ enthalten. Als den besten Beweis kann man wohl ansehen, daß es gelang, die „Gasvakuolen“ zu isolieren, ohne daß sie sich verflüchtigt hätten. Bringt man frisches Material von Aphanizomenon flos aquae in eine 10prozentige Kaliumnitratlösung, so wird die Alge mazeriert und die frei werdenden „Gasvakuolen“ erweisen sich als Vakuolen mit einer Unzahl kleinster Inhaltskörperchen. HINZE hat in einer seiner neuesten Arbeiten die alte P. RICHTERsche Anschauung wieder aufgenommen und damit die Ansicht über die Gasvakuolen“ dahin formuliert hat: Die „Gasvakuolen“ vieler Oscillarien bestehen aus Schwefel. — Dagegen hält sie A. FISCHER für das sogenannte Anabaenin: ein Kohlehydrat, angeblich das erste Assimilationsprodukt.

Physoden. CRATO bezeichnet als Physoden bläschenartige Gebilde, die ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen besitzen als die übrigen Zellbestandteile, sich selbständig innerhalb der Plasmalamellen verschieben und auch ausgedehnte amöboïde Formveränderungen zeigen können. Bei den Phäophyceen, die CRATO eingehender untersucht hat, kommen die Physoden in allen Zellen vor. Sie bestehen hier aus einer mit Wasser mischbaren Flüssigkeit, welche von einer zarten Plasmalamelle umgeben ist, die durch verschiedene Reagentien in ein undurchlässiges Häutchen verwandelt wird und somit den Verlauf der Reaktionen in verschiedener Weise beeinflussen kann. Vanillin-Salzsäure erzeugt intensive Rotfärbung, es sei nicht unmöglich, daß Phlorogluzin ein Bestandteil der Physoden ist. Anilinsulfat und Kaliumnitrit färben die Physoden erst gelb, dann rot. Phenolartige Stoffe seien der Grund des Auftretens gewisser Eiweißreaktionen, doch bestünden die in Rede stehenden Inhaltskörper keinesfalls aus Eiweiß!

HANSTEEN suchte die schon vor CRATO geäußerte Ansicht von der organoiden Natur der von CRATO als organisch beschriebenen Gebilde durch neue Tatsachen zu stützen. Er hätte die Körper als „Fukosankörner“ beschrieben und könne nicht anders als sie noch so benennen, sie seien mit SCHMITZ' „Phäophyceenstärke“ identisch (vgl. diese). Nach MEYER sollen sie zum großen Teile aus Volutin bestehen.

Myriophyllin. RACIBORSKI hat die schon mehrfach beschriebenen Inhaltskörper der Myriophyllumtrichome, die ihrer Entwicklung nach mit Gerbstoffvakuolen eine große Ähnlichkeit haben, einer eingehenden mikrochemischen Analyse unterworfen, auf Grund derer er zu dem Ergebnisse gelangt, der Körper sei gewiß kein Phloroglucin, doch sei es immerhin wahrscheinlich, daß ein glykosidartiger Körper vorliege. Die mit Vanillin-Salzsäure erhaltenen Resultate über Phlorogluzinverbreitung müßten sonach nachgeprüft werden, vgl. MÖLLER. Die Myriophyllinuntersuchungen wurden wieder aufgenommen von PRÖSCHER, der sich besonders auf die Rotfärbung des Myriophyllins mit Vanillin-Salzsäure konzentrierte: nach ihm wird es durch

Abspaltung von höchst oxydabel wirkenden Hydroxylgruppen organischen oder anorganischen Radikals hervorgerufen. Er hat das Myriophyllin und das Oxymyriophyllin (die rote Verbindung) isoliert und stellt Mitteilungen darüber in Aussicht.

Leptomin. Bringt man Schnitte aus Stengelstücken von Saccharum officinarum in eine alkoholische Guajaklösung, so färbt sich der parenchymatische Teil, aus dem sich die Gefäßbündel farblos hervorheben. Die im Zuckerrohre enthaltene Oxydase veranlaßt die Oxydation und damit die Blaufärbung. Beim Erwärmen auf 60° und durch absoluten Alkohol wird die Oxydase zerstört. Behandelt man jetzt wieder mit Guajak und Wasserstoffsuperoxyd, so zeigt sich abermals eine prachtvolle, tiefblaue Reaktion, nur sind jetzt gerade die Gefäßbündel gefärbt, speziell die Siebröhren und Geleitzellen des Leptoms. Der anscheinend neue Körper, auf den diese Reaktion zurückzuführen ist, wurde vom Entdecker Raciborski nach dem Orte seines Vorkommens: Leptomin genannt. Doch ist dieses nicht bloß auf die Siebröhren beschränkt, im Milchsafte, auch im Marke gewisser Pflanzen kommt es vor. Seine Bedeutung soll analog der des Hämoglobins in der O-Übertragung gelegen sein.

Die Widerstandsfähigkeit des Leptomins ist so groß, daß es feucht bis 94° C., trocken sogar 100° C. auszuhalten vermag, ohne eine Schwächung der Reaktion zu zeigen.

Grüss hat nun zunächst eingewendet, daß Raciborskis Leptomin nichts weiter sei als eine katalytisch wirkende Diastase (s. o.). Molisch wendete sich besonders gegen die Behauptung des Entdeckers von der prinzipiellen Lokalisation seines Stoffes, indem er zeigen konnte, daß außer Sieb- und Milchröhren auch Bast-, Kollenchym-, Phellogen- und Epidermiszellen die Raciborskische Reaktion zu geben vermögen. Die Antwort ist in Raciborskis Demonstrationsversuchen mit Leptomin enthalten. Grüss mag mit Leptomin verunreinigte Diastase verwendet haben. Die Lokalisation aber kann immer erzielt werden, wenn man nur gewisse Vorsichtsmaßregeln anwendet, und vor allem das rasche Eindringen des Alkohols in die pflanzlichen Lufträume durch Anwendung einer Verdünnungsluftpumpe möglich macht. Es wird dann das Diffundieren in andere Gewebe unmöglich.

Zum makroskopischen Nachweis eignet sich nach Raciborski am besten Guajaklösung und H_2O_2 (Blaufärbung), die alkoholische Lösung eines nicht zersetzten Dimethylparaphenylendiamins und H_2O_2 (rote Färbung) und die alkoholische Lösung gleicher Teile α-Naphtol und Dimethylparaphenylendiamin nebst einigen Tropfen H_2O_2 (dunkelindig- bis schwarzblaue Färbung).

Für mikroskopische Zwecke sind Guajak und α-Naphtol am geeignetsten. Molisch empfiehlt gleichfalls α-Naphtol.

Über einen reaktionshindernden Gerbstoff vgl. das Kapitel „Gerbstoffe“.

Neue Stoffe.

Autor	Neue Körper	Anmerkung
AVETTA, C.	Cystolithen bei Coccinia-Arten	sind nicht Zellulose und färben sich mit Pektinfarbstoffen nicht.
BELAJEFF, W.	Die färbbaren Körperchen in spermatogenen Zellen bei Characeen, Filicinen, Equisetaceen	= Zentrosomen (auf Grund von Studien an Marsilia erkannt).
BELZUNG, E. u. POIRAULT, G.	Nicht näher bestimmte organische Säure in calciumhaltigen Sphäriten	erhalten im sirupartigen Saft von Angiopteris evecta nach zweimonatlichem Stehen.
BENECKE, W.	Die „BÜTSCHLIschen roten Kugeln“	sind durch Fixieren mit Osmiumsäure leicht nachweisb.
BRUNS, E.	„Leuchtkörper“ der Florideen	noch nicht chem. bestimmt. Name rührt von dem Verhalten gegen einfallende und reflektierte Strahlen her.
BUSCALIONI, L.	„Corpo mucilaginoso delle druse“	bedarf der chemischen Nachprüfung.
BUSSE, W.	Stark lichtbrechende, öltropfenähnliche Körper, die schwach gerbstoffartig sind	beobachtet im Gewebe der Knospenscheide der Weißtanne.
CZAPEK, F.	„Hadromal“	zusammengesetzt a. 3 Stoffen.
CZAPEK, F.	„Sphagnol“ in Mooszellhäuten vgl. „Membran d. Moose“	phenolartig, reagiert mit MILLON, isolierbar.
CZAPEK, F.	Sphagnolzellulosid	vgl. „Zellulose-Enzyme und Zelluloside“.
DEBSKI, B.	Braune Massen in den Blattstielen, Blattscheiden und Haaren der Marantaceen	Die Reaktionen werden angegeben.

Autor	Neue Körper	Anmerkung
Debski, B.	Ein Membranstoff bei Characeen	wird als neu beschrieben.
Debski, B.	Die Inhaltskörper junger Zellen bei Characeen	dürften mit den grobkörn. Gebilden Kaisers (D. Z. 1896, p. 258) und Zimmermanns Körnern v. bedeutender Größe und abnormaler Gestalt übereinstimmen (D. Z. 1893, p. 530).
Fischer, A.	Die mit Hämatoxylin rot werdenden Körner der Schwefelbakterien und die Granulationen der Cyanophyceen	sind d. z. chem. noch nicht aufgeklärt.
Fischer, A.	1) Anabaenin 2) Anabaenase	1) Kohlehydrat. 2) Ferment.
Fujii, K.	Eine stark reduzier. Substanz im Bestäubungstropfen v. Taxus baccata	verhindert die Stärkeprobe mit Jod, die Blaufärbung mit Guajak.
Géneau de Lamarlière, L.	ein aromatischer Aldehyd	in Kutikulis (färbt sich nach Schiff).
Golenkin, M.	Elaioplastenartige Körper in d. mittler. Zellschichte v. Sebdenia Monardiana	zweifellos keine Ölbildner. Natur unbekannt.
Guilliermond, A.	Metachromatische Körperchen	mit Pikroformol u. Hämalaun oder Unnas Polychromblau färbbar.
Hansen, A.	Abgerundet kegelförm. Körper, die an d. Basis eine Vertiefung besitzen	beobachtet bei Gracilaria dura und Phyllophora nervosa. Jodjodkalium färbt dunkelbraun.
Hartwich, C.	Ein Körper im Semen Strophanti	gibt m. Schwefelsäure proportional z. Verdünnung Farben von grün über rot nach blau.

Autor	Neue Körper	Anmerkung
Heinricher, E.	Phosphorhaltige kugelige Gebilde	bei Lathraea Squamaria u. clandestina.
Heinricher, E.	Vermutlich ein Kohlehydrat, vielleicht Holzgummi	ein Umwandlungsprodukt d. verholzten Membran der Wirtspflanze infolge Tätigkeit d. Parasiten.
Hinze, G.	Chromatinkörner bei Beggiatoa	sichtbar bei mit Flemmingscher und Merkelscher Flüssigkeit fixierten und mit Heidenhainschem Hämatoxylin gefärbten Mikrotommaterial.
Hunger, F. W. T.	Inhaltskörper der Zellen von Dictyota	mit einprozentiger Osmiumsäure schwarz, mit Vanillinsalzsäure rot.
Ikeno, S.	Chromatinkörper = nukleusartiger Körper	beobachtet b. Taphrina-Arten, sichtbar zu machen mit Flemming u. Heidenhains Eisenhämatoxylin.
Irgang, G.	Schleimführende Idioblasten in der Epidermis von Tropaeolum majus	mit Kali und Natronlauge gelb; geben A. Meyers Schleimreaktion; färben sich mit Hämatoxylin, Anilinfarben etc.
Jahn, E.	Ein Stoff, der weder Cellulose noch Chitin ist	entsteht in älteren Kapillitien von Comatricha obtusata.
Jahn, E.	Dictydinkörner = mit Kernfarbstoffen lebhaft färbbare Körnchen bei Cribrarien u. Dictydien	sollen widerstandsfähige Cellulose sein; sind gegen Alkalien und Säuren ungemein widerstandsfähig.
Kaiser, O.	Grobkörnige Gebilde m. tinktionellen Eigenschaften d. Chromatins.	bei Characeen.

Autor	Neue Körper	Anmerkung
Kolkwitz, R.	Cellulinkörner bei Leptomitus lacteus	färben sich entgegen Pringsheim mit Kongorot; celluloseähnlich.
Lagerheim, G.	Farbstoffe des Torfes	werden durch Oxalsäure und Kaliumnitrat ausgebleicht.
Lidforss, B.	Ölplastiden Lundströms = Tröpfchen vermutlich eines aromatischen Aldehyds mit Kristallen von Kalkoxalat	Ort des Vorkommens: Epidermis von Potamogeton praelongus; leicht in vivo färbbar mit Neutralrot etc.; löslich in 10proz. Alkohol, tauchen bei Wasserzutritt auf (vgl. Zimmermanns Referat).
Macdougal, D. T.	Ein bitter schmeckender Stoff in den Epidermislagen von Isopyrum	Salpetersäure verändert ihn zu dunklen Kristallen. Vielleicht ein Gerbstoff, der sich mit einem Chromogen verbindet.
Meves, Fr.	Mitochondrien = stark lichtbrech. mit Dahlia intra vitam lebhaft färbbare Mikrosomen	aufgefunden in den Tapetenzellen jugendlich. Antheren von Nymphaea alba.
Möbius, M.	Anthophäïn, brauner Blütenfarbstoff	aufgefunden in den Blütenblättern von Vicia Faba; mikrochemisch wenig charakterisiert.
Molisch, H.	„Luteofilin“, genannt nach seiner Reaktion mit 20proz. Kalilauge	aufgefunden in den Schleimsäften von Amaryllideen etc.
Molisch, H.	Sphärokristalle, hervorgerufen mit Salzsäure an der Blattmittelrippe und im Rindenparenchym	Beobachtungspflanze: Strobilanthes Dycrianus.

Autor	Neue Körper	Anmerkung
MOLISCH, H.	Ein Stoff, der mit konz. Schwefelsäure augenblicklich rotviolett wird; Salzsäure wirkt ebenso nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Std.	beobachtet bei d. Membranen der Kompositenpollen. Stoff ist unbekannt.
MOLLE, PH.	Ein Alkaloïd	bei Clivia miniata.
MÖLLER, H.	MÖLLERS Cholesterinkörper sind PRAZMOWSKIS Eiweißinhaltsstoffe und FRANKS Amylodextrinkörner	Ort des Vorkommens: Wurzelknöllchen von Pisum sativum.
NESTLER, A.	Drüsenhaarsekret von Primeln	wurde zur Kristallisation gebracht, ist sublimierbar (vgl. Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1901, H. 6), ist giftig.
NEUKIRCH, H.	Körnchen bei Aktinomyceten	stark färbbar mit Methylenblau, werden mit Jodjodkalium dunkelbraun, vielleicht Kerne.
PALLA, E.	Karyoïde = kugelige Gebilde der Conjugaten	mit Eosin oder Methyleosin in Jodwasser färbbar. Pikrin-Anilinblau zur Färbung empfehlenswert, Rohrzuckerlösung zur Konservierung empfohlen. Doppelfärbung m. Methylenblau-Eosin macht Gerbstoffbläschen blau, neue Organe rot.
PLANCKEN, J. v., u. BIOUGRE, PH.	Sphärokristalle im Honigtau der Rotbuche	sehr hygroskopisch, zuckersüß und klebrig. Karmin färbt sie wie Gummi rot.
PLATO, H., u. GUTH, H.	Granula von Penicillium brevicaule	färben sich vital mit Neutralrot rot, nach d. NEISSERschen Diphtheriebazillen-Verfahren färbbar.

Autor	Neue Körper	Anmerkung
RICHTER, O.	Sphärite einer nicht näher untersucht. Substanz in	mit kaltem Ammoniak mazeriertem Kartoffelperiderm.
ROTHERT, W.	Kristallhäute d. Kristalle bei den Pontederiaceen	deren Natur noch unaufgeklärt.
RYWOSCH, S.	Öl der Koniferennadeln	unentschieden ob ätherisch oder fett.
SCHMIDLE, W.	Die „roten Körperchen" v. SCHMITZ in d. späteren Stadien des Trichogyns v. Batrachospermum	sollen durch Fragmentation der Spermatiumkerne entstanden sein.
WALLIN, G. S.	Eigenartige Inhaltskörper in den Zellen der Gefäßbündelscheiden d. Bromeliaceenblätter	vielleicht ein oxyaromatischer Körper, die Substanz scheint im Zellsaft nicht enthalten zu sein.
WEBER VAN BOSSE	„Grains de cellulose"	in der Phyllosiphonee Phytophysa Treubii, geben die Cellulosereaktionen.
WILDEMAN, E. DE	Ein Alkaloïd	bei Orchideen.
WISSELINGH, C. V.	Ein in Kalilauge leicht löslicher Stoff, der die Cerinsäureprobe nicht gibt,	beobachtet in den Vittinlamellen der Umbelliferen neben Pektinstoffen.
WISSELINGH, C. V.	Gelbbraune Massen in Ölgängen d. Umbelliferen	D. Z. unaufgeklärt.
ZACHARIAS, E.	Substanz von Glykogenreaktion	im Zentralkörper der Cyanophyceen.
	ad Cyanophycinköner	werden mit Essigsäure-Karmin intensiv rot.
	ad Zentralkörner	bleiben bei gleicher Behandlung farblos.
	sechsseitige Täfelchen	vorgefunden bei Lingbya.

Autor	Neue Körper	Anmerkung
Zimmermann, A.	„Granula“ = kugelförm. Körper bei Tradescantia discolor	stimmen mit den von Altmann gefundenen Differenzierungen des Tierplasmas überein, sie sind nicht: Fett, Gerbstoff, Leukosomen, sie sind vielleicht Eiweiß. Fixierungsmittel: 3proz. Salpetersäure, Färbemittel: Säurefuchsin.

Anmerkung: Man vergleiche auch das Kapitel „Der Zellulose verwandte Körper“ und „Die Kutikula und die verkorkten Membranen“, „Neue dem Suberin verwandte Körper etc.“

(Schluß im nächsten Heft.)

[Eingegangen am 4. Juni 1905.]

Referate.

1. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Fischler, F., Über die Unterscheidung von Neutralfetten, Fettsäuren und Seifen im Gewebe (Zentralbl. f. allg. Pathol. u. path. Anat. Bd. XV, 1904, No. 22, p. 913—917).

Verf. hebt hervor, daß wir immer noch recht weit entfernt sind von einigermaßen einheitlichen Vorstellungen über das Wesen der Prozesse, welche beim Auftreten oder Verschwinden mikroskopisch nachweisbaren Fettes in Zellen und Organen bei ihren verschiedenen Funktionszuständen auftreten. Wir würden in den Auf- und Abbau von Fett einigermaßen Einblick gewinnen können, wenn es uns gelänge, die Spaltungsprodukte desselben womöglich in loco zu fixieren. Als solche würden die Fettsäuren und ihre Salze, die Seifen, eine besonders wichtige Rolle spielen. Anknüpfend an die Methode von Benda (Beizung der Gewebe mittels Weigerts Gliabeize oder reiner konzentrierter Kupferacetatlösung) hat Verf. versucht, eine entsprechende mikrochemisch brauchbare Methode zu finden. Er probierte zunächst aus, wieweit die Kupfersalze der verschiedenen Fettsäuren mit Hämatoxylin eine Lackverbindung eingehen: es reagierten alle drei fettsauren Kupfersalze, das stearin-, palmitin- und oleïnsaure Kupfer mit Weigertschem Hämatoxylin unter Lackbildung und auch ihre gekupferten Kalium-, Natrium- und Calciumsalze. Die fast völlige Unlöslichkeit der Kupferlacke in Weigertscher Differenzie-

rungsflüssigkeit erlaubt die Anwendung der Methode auf die Gewebe, in denen auf diese Art und Weise Fettsäuren auch in den kleinsten Tropfen nachgewiesen werden können. Aber nicht nur Fettsäuren lassen sich so fixieren, auch die Seifen sind einer ähnlichen Behandlung zugänglich. Hierzu ist nur die Umwandlung der Seife in loco in ein unlösliches fettsaures Salz nötig, wofür sich ein leicht lösliches Calciumsalz, das salizylsaure Calcium, bewährte. Bringt man von diesem etwas in eine dünne Seifenlösung, so bildet sich sofort ein weißer, voluminöser Niederschlag von fettsaurem Kalk. Bei den Geweben fixiert Verf. Stücke, die auf Seifengehalt zu prüfen sind, in 10prozentiger Formollösung, der salizylsaures Calcium bis zur Sättigung zugesetzt ist. Überall, wo im Gewebe Seifenlösung vorhanden ist, entsteht sofort fettsaures Calcium, das hiermit in loco fixiert ist. Dieses läßt sich dann wieder verkupfern und dann mit Hämatoxylin nachweisen. Bei einfach mit Formol gehärteten Geweben geht eventuell vorhandene Seife in die Härtungsflüssigkeit über. Der Vergleich zwischen diesen und den mit Calciumzusatz gehärteten Präparaten (bei sekundärer Kupferung und Hämatoxylinbeizung) läßt einen Schluß zu darauf, ob außer Fettsäure auch noch Seife im Gewebe vorhanden ist. Unter Seife wird hier das Kalium- oder Natriumsalz der Fettsäure verstanden. Versuche, welche Verf. an Organen machte, bestätigten die bisherigen Versuche im Reagenzröhrchen. Nun hat Benda aber seinerzeit angegeben, daß die fettsauren, gekupferten Kristalle in wässeriger Hämatoxylinlösung ihre blaugrüne Eigenfarbe behielten, und mit Fettgewebsnekrosematerial angestellte Versuche bestätigten diese Angabe. Als Grund dafür ergab sich, daß sich das reine ölsaure Kupfer nur schwer mit wässerigem Hämatoxylin färbt, weil es sich eben nur sehr langsam darin löst. Alkoholische Hämatoxylinlösungen ergaben daher auch eine Färbung: Bringt man für wenigstens 12 bis 24 Stunden Stücke mit nekrotischem Fettgewebe in eine dünne Hämatoxylinlösung in 96- bis 100prozentigem Alkohol, so färben sich auch die Nekroseherde ganz schwarz, widerstehen den entfärbenden Eigenschaften der Ferrocyankalium-Boraxlösung und können als isolierte blauschwarze Flecke in dem sich sonst entfärbenden Gewebe dargestellt werden. Verf. hebt besonders hervor, daß sich die gekupferten Calcium-, Kalium-, Natrium- und Magnesiumsalze viel rascher mit Hämatoxylin anfärben, auch in wässeriger Lösung, als die Verbindung, welche man beim Zusammenbringen von reiner Ölsäure mit Kupferacetat erhält. Dieses letztere Salz sieht auch am meisten grün aus. Man muß daher für die Aus-

führung der oben beschriebenen Reaktion im Gewebe alkoholische Hämatoxylinlösungen verwenden und möglichst dünne Stücke, also am besten Gefrierschnitte. Es hat sich bis jetzt die alkoholische 10-prozentige WEIGERTsche Hämatoxylinlösung bewährt, doch dürfte sich die Anwendung auch noch stärkerer alkoholischer Lösungen empfehlen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Lenhossék, M. v., RAMÓN Y CAJALS neue Fibrillenmethode (Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXIII, 1904, No. 13, p. 593—609).

Verf. rühmt nach seinen Erfahrungen die Silbermethode von RAMÓN Y CAJAL und empfiehlt, die Färbung noch durch das Tönen der Schnitte im Goldbade zu ergänzen. Sein Assistent, Dr. L. BAKAY. hat auf die Mitteilung von BIELSCKOWSKY hin das folgende Verfahren dafür ausprobiert: Nachdem die Schnitte die Silbermethode von CAJAL bis zu Ende durchgemacht haben, kommen sie in destilliertes Wasser. Dann in eine sehr schwache Goldchloridlösung: Von der vorrätigen einprozentigen Lösung werden 4 cc mit 150 cc destillierten Wassers verdünnt. Eine Ansäuerung des Goldbades (BIELSCHOWSKY) ist nicht nötig. Die Schnitte bleiben verschieden lange Zeit in der Goldlösung (10 Minuten bis eine Stunde) je nach der Beschaffenheit des Objektes und der Dicke der Schnitte: Die gelbe Farbe muß vollkommen einer stahlgrauen gewichen sein, was sich schon mit freiem Auge feststellen läßt, indessen kann man den richtigen Zeitpunkt zur Herausnahme nur mit dem Mikroskope feststellen; er ist eingetreten, sobald die Fibrillen intensiv schwarz, die übrige Substanz der Zellen und ebenso auch die Kerne, abgesehen von dem bräunlich gefärbten Kernkörperchen, vollkommen entfärbt oder in einem blaß violetten Tone gefärbt sind. Ist dies der Fall, so bringt man die Schnitte auf etwa 5 Minuten in eine 3- bis 5prozentige Lösung von Fixiernatron und auf weitere 10 Minuten in fließendes oder öfter gewechseltes Wasser, dann gründliche Entwässerung, Aufhellung, Kanadabalsam. Übermäßiges Vergolden verdirbt die Präparate. Resultat: Die Grundsubstanz der Nervenzellen und ihrer Dendriten, die früher eine gelbliche Farbe zeigte, erscheint jetzt fast ganz ungefärbt; bei den Dendriten lassen sich die Grenzlinien kaum noch feststellen, es sieht aus, als ob ihre Neurofibrillen ganz frei, extrazellulär lägen. Die Neurofibrillen treten viel schärfer hervor, auch feine, früher fast unsichtbare Fibrillen sind jetzt sichtbar. Die Fibrillen sind dabei nicht dicker als in dem unvergoldeten Präparate. Am besten bewährt sich die Methode bei den Zellen der Grenzzone

zwischen innerer und mittlerer Schicht (der ganz schwach gefärbten und der mäßig gefärbten); Zellen, mit denen man wegen der blassen Färbung der Fibrillen im nicht vergoldeten Präparate nicht viel anfangen konnte, werden jetzt durch die stahlgraue Färbung der Fibrillen zu vorzüglichen Untersuchungsobjekten. Die Präparate sehen nun ungefähr so aus, wie die von Bielschowski. — Verf. hebt hervor, daß die Theorie der ganzen Färbungsmethode noch sehr dunkel ist. Es handelt sich wohl ziemlich sicher um eine „Imprägnation“ und nicht um eine „Färbung“, doch ist dies nur theoretisch zu erschließen, denn gelungene Präparate zeigen ganz das Bild einer richtigen Färbung. Die Niederschlagsmassen müssen also außerordentlich fein verteilt sein. *Schiefferdecker (Bonn).*

2. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Depdolla, Ph., Untersuchungen über die Spermatogenese von Lumbricus terrestris (Zool. Anz. Bd. XXVIII, 1905, p. 545—557).

Zur Fixierung wurde anfangs die Hermannsche Platinchloridosmiumessigsäure bevorzugt, später aber ausschließlich die von Benda für Mitochondrien empfohlene Chromosmiumessigsäure angewandt. Zur Färbung diente außer Eisenhämatoxylin noch Gentianaviolett und die Bendasche Mitochondrienfärbung mit alizarinsulfosaurem Natrium und Kristallviolett. Zwar erhielt Verf. nie, wie Benda angibt, die Mitochondrien allein blau und den übrigen Zellinhalt rötlich, sondern Chromatin und Zentralkörner blau, trotzdem aber waren die Resultate sehr befriedigend. Um die gestreckten Spermatiden und die Spermatozoën ganz zu erhalten, wurden Ausstrichpräparate hergestellt.

E. Schoebel (Neapel).

Hirschler, J., Weitere Regenerationsstudien an Lepidopterenpuppen [Regeneration des vorderen Körperendes] (Anat. Anz. Bd. XXV, 1904, No. 18, 19, p. 417—435 m. 5 Figg.).

Verf. experimentierte an drei einheimischen Arten, Thais Polyxena Schiff., Bombyx Lanestris L., Saturnia pavonia L. und einer ausländischen Art, Samia promethea. Am geeignetsten zur Regenerationsversuchen erwiesen sich Saturnia, Bombyx und Samia, gänzlich ungeeignet war Thais. Verf. schnitt den Puppen mit einem scharfen Rasiermesser die Kopf- und Halsgegend, sowie den vordersten Thoraxteil vom Körper ab. Gleich nach der Verwundung floß ein großer Teil des Puppeninhaltes heraus; die Wunde wurde mit mäßig erhitztem Paraffin bedeckt und so vollkommen abgeschlossen. Die sämtlichen Regenerationsprozesse dauerten 40 Tage (bei ziemlich warmer Zimmertemperatur), wonach die totale Falterentwicklung eintrat. So behandelte Puppen wurden in bestimmten Zeiträumen fixiert in einer gesättigten wässerigen Sublimatlösung mit 5prozentiger Essigsäure. Jede Puppe wurde vor der Fixierung in der Mitte durchschnitten und außerdem die Chitindecke an zahlreichen Stellen durchstochen. Dauer der Fixierung 6 bis 7 Stunden. Nach Entwässerung in steigendem Alkohol und Behandlung mit Xylol spaltete Verf. von der rechten oder linken Puppenseite her mittels eines flachen Schnittes den Chitinmantel ab, um im Verlaufe von 7 Stunden eine Paraffindurchtränkung zu ermöglichen. Gefärbt wurde mit Hämatoxylin (Delafield), Hämateïn (Apáthy) in Verbindung mit wässerigem Eosin oder Lichtgrün, Thionin, Krauses Dreifarbenmischung und dem Eisenhämatoxylin von Heidenhain, das gute Dienste bei der Beobachtung der Muskeldegeneration leistete. Die Golgische Chromsilbermethode ergab zum Studium der nervösen Elemente sehr ungünstige Resultate. *Schiefferdecker (Bonn).*

B. Wirbeltiere.

Preisich, K., u. **Heim, P.,** Über die Abstammung der Blutplättchen (Virchows Arch. Bd. CLXXVIII, 1904, H. 1, p. 43—60 m. 1 Tfl.).

Die Verf. lassen die Blutplättchen aus den Kernen der roten Blutkörperchen hervorgehen. Die Untersuchungen wurden meist an getrockneten und gefärbten Präparaten ausgeführt. Zur Färbung wurde die folgende Modifikation des Romanowszkyschen Verfahrens verwendet, durch welche die Färbung einfacher wurde; die so er-

haltenen Bilder unterschieden sich wesentlich von denen, welche nach dem gewöhnlichen Verfahren gewonnen werden. Methode: Die Methylenblaulösung und die einprozentige wässerige Eosinlösung wurden genau nach der Vorschrift von ROMANOWSZKY angefertigt; die Modifikation bestand in der Mischung der beiden Farbstoffe: Die Verff. bringen von der Stammlösung des Methylenblaus 10 Tropfen durch Filtrierpapier in 10 cc destilliertes Wasser, und nach der Vermischung dieser mit dem Wasser werden ein bis 2 Tropfen der Eosinlösung dazu gesetzt und rasch gemischt. Das Deckgläschen mit dem aufgetrockneten Blute wird auf die Oberfläche der so gewonnenen Farbmischung gebracht, so daß es auf dieser schwimmt. Wichtig ist es hierbei, daß das Blutpräparat nach der Eintröpfelung des Eosins sehr rasch der Farbmischung aufgelagert wird, bevor sich auf der Oberfläche dieser ein metallglänzendes Häutchen bilden kann, welches übrigens ein Beweis für die Güte des Farbstoffes ist. Man bekommt schon nach 10 Minuten ganz schöne Bilder, doch können die Präparate eine halbe Stunde und länger gefärbt werden, ohne daß sie Schaden nehmen. Nach der Färbung werden die Präparate mittels eines gelinden Wasserstrahles gut, aber nicht allzu lange abgewaschen, dann läßt man sie trocknen und montiert in Kanadabalsam. Die zum Färben benutzte Lösung muß jedesmal ganz frisch aus den beiden Stammlösungen hergestellt werden. Die Methylenblaustammlösung hält sich 6 bis 8 Wochen, doch schwächt sich ihre Färbefähigkeit während dieser Zeit schon ab. Es empfiehlt sich daher, auf je 2 Wochen des Alters der Methylenblaustammlösung über die 10 Tropfen einen Tropfen mehr in die 10 cc des destillierten Wassers zu bringen. Die mittels Hitze fixierten Präparate eigneten sich weniger zur Färbung nach diesem modifizierten Verfahren als jene, welche mittels einer Mischung von Alkohol und Äther fixiert worden waren. Man kann aber auch die mittels Hitze fixierten Präparate zur Färbung nach der vorliegenden Methode geeignet machen, wenn man sie vor der Färbung für einige Minuten in eine Mischung von Alkohol und Äther bringt. Die so gefärbten Präparate zeigen folgendes: Rote Blutzellen stahlblau, Zellkerne rötlichblau bis violett, Protoplasma der Lymphocyten blau, Granulation der weißen Blutzellen rot, die Granula der eosinophilen Zellen färben sich nicht, das Protoplasma dieser Zellen zeigt eine lichtblaue Zeichnung, in der ungefärbte, derbe Körnchen wahrnehmbar sind. Die Blutplättchen werden rotviolett bis lebhaft rot, d. h. sie färben sich in denselben Farbenschattierungen wie die Granula der weißen Blut-

zellen. Die Kerne abgestorbener weißer Blutzellen werden lebhaft rot und zeigen jede Schattierung bis zum lichten Rosenrot. — Die Untersuchungen erstreckten sich in erster Reihe auf das normale Blut von Kindern und Säugetieren (Kaninchen, Meerschweinchen).

Schiefferdecker (Bonn).

Helber, E., Über die Entstehung der Blutplättchen und ihre Beziehungen zu den Spindelzellen (Deutsches Arch. Klin. Med. 1904. Bd. LXXXII, H. 1, 2, p. 41—59 m. 1 Tfl).

Froschblut untersuchte Verf. in der Weise auf Blutplättchen, daß er es einer Bauchvene entnahm und in einer Mischpipette mit einer 10prozentigen Lösung von Natriummetaphosphat auf das 30-fache verdünnte. Die Beobachtung erfolgte in einer Zeiss schen Kammer von 0·02 mm Höhe; die besten Bilder der Blutplättchen geben Färbungen nach Romanowsky-Giemsa. Härtung in einer Mischung von gleichen Teilen von Alkohol und Äther. Kernsubstanz der Plättchen leuchtend violett-rot, Protoplasma in indifferentem Farbentone. Färbungen mit Hämalaun-Eosin oder nach Chenzinsky geben nicht dieselben brauchbaren Bilder, da die Plättchen nur schwach gefärbt sind. *Schiefferdecker (Bonn).*

Kopsch, F., Über den Kern der Thrombocyten und über einige Methoden zur Einführung in das Studium der Säugetier-Thrombocyten (Internation. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. 1904, Bd. XXI, H. 4—8, p. 344—353).

Verf. gibt in dieser Arbeit eine hübsche Zusammenstellung der für die Untersuchung der Thrombocyten oder Blutplättchen günstigen Methoden. Ich werde versuchen, dieselben möglichst kurz hier anzuführen. 1) Beobachtung der Thrombocyten innerhalb der Gefäßbahn: Mesenterium kleiner Säugetiere (Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen) oder Fledermausflügel. Für Kurszwecke kleine Stücke des großen Netzes, entnommen dem soeben durch Kopfabschneiden getöteten Tiere, ohne Zusatzflüssigkeit zwischen Deckglas und Objektträger; Umrandung des Deckglases mit Paraffinum liquidum. Kleines Blutgefäß oder Kapillare, welche nur wenige Blutkörperchen enthält. Die Thrombocyten in Brown scher Molekularbewegung. 2) Thrombocyten im gewöhnlichen frischen Blutpräparate. Objektträger, Deckglas, scharfe Nadel bereit

legen, in die mit Alkohol gereinigte Fingerbeere einstechen, die ersten Tropfen abwischen, mit der Unterseite des Deckglases einen kleinen Tropfen des eben herausgequollenen Blutes abwischen, auf den Objektträger legen und ohne Zeitverlust diejenige Stelle betrachten, an der das Blut das Deckglas zuerst berührt hat: an der Unterfläche des Glases kleben einzeln oder in kleinen Gruppen die hellglänzenden Thrombocyten. Nach kurzer Zeit Sternform, Vakuolen usw.; nach 4 bis 5 Minuten Fibrinfäden. Man muß die hellen, von roten Blutkörperchen freien Lücken des nicht zu dicken Präparates aufsuchen. An dem frischen Blutpräparate können folgende Versuche vorgenommen werden: a) Wegschwemmen der Erythrocyten und Leukocyten. An den Rand des Deckglases ein Tropfen von gewöhnlichem oder destilliertem Wasser, Absaugen auf der anderen Seite mit Filtrierpapier. Nach Wegschwemmen der Blutkörperchen sieht man die an der Unterfläche des Deckglases in ungeheurer Menge haftenden Thrombocyten. Bald bildet sich in jedem eine Vakuole, welche allmählich größer wird und an deren Peripherie sich der Kern befindet. b) Behandlung des frischen Bluttropfens mit Essigsäure. Starke Lösungen von Essigsäure konservieren die Form, welche die Thrombocyten im zirkulierenden und frisch quellenden Blute haben, verdünnte Lösungen wirken wie Wasser. c) Kalilauge von 33 Prozent verändert die Gestalt wenig, verdünnte Lösungen zerstören sie sehr schnell. 3) Gewinnung zahlreicher isolierter Thrombocyten nach Bürker[1]. Vorzubereiten: eine feuchte Kammer und ein Stück Paraffin, dessen eine Fläche durch Abschaben mittels eines Objektträgers oder durch Überfahren mit heißem Spatel glatt gemacht worden ist. Auf diese Fläche läßt man einen reichlich großen Bluttropfen fallen und bringt dann das Paraffinstück in die feuchte Kammer. Das Blut gerinnt nicht, so daß eine Trennung der verschieden schweren Bestandteile eintreten kann. Oben befindet sich nach 20 bis 30 Minuten das Plasma mit den spezifisch leichten Thrombocyten, welches man mittels eines Deckglases abheben kann, um die Thrombocyten zu beobachten und verschiedenen Reaktionen zu unterwerfen. 4) Konservierung der Thrombocyten in dem Zustande, welchen sie im zirkulierenden Blute haben unter Erhaltung der Erythrocyten und Leuko-

---

[1]) Bürker, K., Blutplättchen und Blutgerinnung (Arch. f. d. ges. Phys. Bd. CII, 1904, p. 36—94, s. p. 41).

cyten. Osmiumsäurelösung 0,5 bis 2 Prozent mit und ohne Essigsäure, Jodjodkaliumlösung, metaphosphorsaures Natron, Hayems Flüssigkeit u. a. Man bringt einen Tropfen der gewählten Flüssigkeit auf die Fingerkuppe und sticht durch ihn mit der Nadel in die Haut. Der herausquellende Bluttropfen wird mit der Fixierungsflüssigkeit durch Umrühren mit der Nadel gemischt, zwischen Deckglas und Objektträger gebracht und umrandet. 5) Beobachtung der lebenden Thrombocyten außerhalb der Gefäßbahn nach Deetjen (vergl. diese Zeitschr. Bd. XVIII, 1901, S. 336 bis 339 und S. 341). 6) Färbung der Thrombocyten im frischen Blutpräparate durch Methylviolett[1]. Man läßt zu einem soeben angefertigten Blutpräparate einen Tropfen irgendeiner wässerigen Methylviolettlösung fließen, die Erythrocyten und die Leukocyten werden zum Teile weggeschwemmt oder nach einer Seite gedrängt. Die an der Unterfläche des Deckglases haftenden Thrombocyten nehmen die Farbe schnell an, erleiden aber dieselben Veränderungen wie bei Zusatz von Wasser oder verdünnter Essigsäure. Ferner färben sich die Kerne und das Protoplasma der Leukocyten sowie die Membran der Erythrocyten. Für ein Dauerpräparat muß recht stark gefärbt werden, dann Abheben des Deckglases, Abspülen in Wasser, lufttrocken machen, noch etwas über der Flamme trocknen, auf ein Tröpfchen Kanadabalsam legen. Je nachdem die Farbe gleich nach Anfertigung des Präparats oder später zugesetzt wird, ist das Aussehen der Thrombocyten verschieden, bei der vierten bis fünften Minute wundervolle Färbung des Fibrinnetzes. 7) Färbung der Thrombocyten durch Tetrajodfluoresceïn. Diese von Ehrlich[2] angegebene Färbung ist außerordentlich wichtig, da sie beweist, daß im Protoplasma der Thrombocyten ebenso wie in dem der Leukocyten freies Alkali enthalten ist. Die Farblösung wird frisch bereitet: in ein Reagierröhrchen wird etwas Eosin- oder Erythrosinlösung getan und mit etwas Salzsäure versetzt. Sofort flockiger Niederschlag des in Wasser unlöslichen Tetrajodfluoresceïns. Nun wird etwas Toluol oder Chloroform zugesetzt und geschüttelt. Der Niederschlag löst sich hierin mit hellgelblicher Farbe. Etwas von dieser Lösung kommt in ein zugedecktes Schälchen und hier hinein das nur lufttrockene (sonst nicht weiter fixierte)

[1]) Schäfer, E. A., The essentials of histology. 6. Aufl. London (Longmans, Green & Co.) 1902. p. 22. Vorschrift 3.

[2]) Ehrlich u. Lazarus, Anämie Bd. I.

Präparat für einige Minuten. Abspülen des Präparates in reinem Toluol oder Chloroform. Einschluß des feuchten Präparates in Kanadabalsam: Erythrocyten ungefärbt, Protoplasma der Thrombocyten und Leukocyten rot, ihre Kerne ungefärbt. 8) Färbung der Thrombocyten im gewöhnlichen Bluttrockenpräparat. Sie gelingt mit vielen (vielleicht mit allen) der bisher zur Färbung von Bluttrockenpräparaten empfohlenen Farbstoffe oder Farbgemische. Bei der Herstellung des Trockenpräparates äußerste Sauberkeit und Schnelligkeit; letztere namentlich beim Lufttrockenwerden des Präparates; je schneller die Lufttrocknung erfolgt, desto besser färben sich die Thrombocyten: Unterstützung der Verdunstung durch Fächeln und dadurch, daß man die mit Blut beschickten Deckgläser auf eine körperwarme Platte legt. Man achte auch hier auf die Stelle des oberen Deckglases, welche die Kuppe des Bluttropfens zuerst berührt hat: hier sind die Thrombocyten am zahlreichsten. Die Fixierung kann durch Hitze oder absoluten Alkohol oder Alkoholäther erfolgen. Erfolgreich gefärbt wurde mit: Triacid in seinen verschiedenen Modifikationen, Eosin-Methylenblau, Hämatoxylin-Eosin. Der Thrombocytenkern ist meist nicht vom Protoplasma zu unterscheiden, nur bei Methylenblau-Eosin nach REUTER[1] gelang es manchmal, den Kern blau, das Protoplasma rot oder rotgelb zu erhalten. 9) Verdauung mittels Pepsinsalzsäure[2]. Man setzt zu einem schnell hergestellten frischen Blutpräparate an den linken Rand des Deckglases tropfenweise Pepsinsalzsäure (Pepsin-Glyzerin von GRÜBLER 100 cc und Salzsäure 1 cc), während am rechten Rande ein Stück Filtrierpapier den Überschuß von Flüssigkeit absaugt. Die roten Blutkörperchen und ein Teil der Leukocyten werden weggeschwemmt. Die an der Unterfläche des Deckglases haftenden Thrombocyten und Leukocyten bleiben zurück; an ihnen wird die Wirkung des künstlichen Magensaftes mit Immersion beobachtet, auf jedem Thrombocyten entsteht eine Hohlkugel, an deren Wand der Kern liegt; die Wand derselben verschwindet später, so daß nur der etwas gequollene und eine Anzahl feiner Kügelchen zeigende Kern zurückbleibt. Jetzt wäscht man die Pepsinsalzsäure mit Wasser aus und verdrängt das Wasser mit absolutem Alkohol (eine bis

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XVIII, 1901, p. 314—317.

[2]) Vergleiche dieserhalb auch LILIENFELD, L., Hämatologische Untersuchungen (Arch. f. Anat. u. Phys. 1892; diese Zeitschr. Bd. IX, 1892, p. 363—364).

zwei Minuten). Färbt man jetzt mit Methylgrün, so werden die kleinen glänzenden Kügelchen des Thrombocytenkernes grün gefärbt. 10) Studium der Blutgerinnung. Man bringt einen großen Tropfen Blut zwischen Deckglas und Objektträger und läßt das Präparat 5 bis 10 bis 15 Minuten und länger in der feuchten Kammer. Dann Abheben des Deckglases, Abspülen in Wasser, dann absoluter Alkohol (10 Minuten), oder einprozentige Osmiumsäurelösung (eine bis 2 Minuten), dann Färbung mit konzentriertem Alaunhämatoxylin oder mit Methylviolettlösung. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Bab, H., Die Colostrumbildung als physiologisches Analogon zu Entzündungsvorgängen. Gleichzeitig ein Beitrag zur Lehre von den Leukocyten und deren Granulationen. Mit historischen Darlegungen. Berlin (A. Hirschwald) 1904. 97 pp.

Verf. hat bei seinen Untersuchungen intraperitoneale Milchinjektionen gemacht bei Meerschweinschen und bei Salamandra maculosa. Die Kuhmilch wurde vorher abgekocht. Nach der Injektion wurde dann von Zeit zu Zeit etwas von der intraperitoneal angesammelten Flüssigkeit entnommen und sowohl frisch und ungefärbt (resp. mit geringem Methylenblauzusatz) als auch als gefärbtes Trockenpräparat mikroskopisch untersucht. Die Fixierung wurde meist durch Formoldämpfe erzielt, öfters auch durch Alkohol, durch Erhitzen in der Flamme, durch einfache Lufttrocknung, durch Äther, durch Sublimatalkohol oder endlich durch einstündiges Erhitzen bei konstant bleibender Temperatur von 110°. Am meisten bewährte sich die recht bequeme Methode der 2 bis 3 Minuten langen Einwirkung der Formoldämpfe in einer feuchten Kammer, da hierbei das Fett nicht gelöst wird und außerdem Veränderungen in der Struktur der Gewebe nur in sehr geringem Maße stattfinden. Gefärbt wurde mit folgenden Farbstoffen: 1) Scharlach R (Fettponceau), gelöst in 70prozentigem Alkohol. Nachfärbung mit Hämatoxylin zur Blaufärbung der Kerne und Glyzerineinschluß. Die Verwendung von Scharlach zur Fettfärbung ist aufs wärmste zu empfehlen, da sie ausgezeichnet klare Bilder gibt und keinen Zweifel läßt, ob etwas Fett ist oder nicht. Präparate viele Monate haltbar. 2) Eosin-Hämatoxylin, Kanadabalsam. 3) Ehrlichs Triacid (Orange G, Säurefuchsin, Methylgrün) zur Darstellung der eosinophilen und pseudoeosinophilen (neutrophilen) Granula. Kanadabalsam. 4) Dreifachsaures Gemisch: An-

rantia-Eosin-Nigrosin zur Darstellung der Eosinophilen und Kurloffschen Nigrosinophilen. Kanadabalsam. 5) Thionin oder Methylenblau oder Nilblau zur Darstellung von Mastzellen. Kanadabalsam. 6) Eosinsaures Methylenblau in Methylalkohol nach May-Grünwald für Mastzellen, eosinophile und neutrophile Granulationen. Kanadabalsam. 7) Flemmingsches Säuregemisch (Chromsäure-Osmiumsäure-Eisessig) zur Fettschwärzung. Kanadabalsam. 8) Ehrlichs Jodgummimethode: Lugolsche Lösung und dicker Gummischleim. Zum Glykogennachweise. — Die der Bauchhöhle entnommene Flüssigkeit (Milch und Exsudat) ist zuerst reichlich und milchig, wird dann gelblich und mehr oder weniger fadenziehend und zäh, nimmt allmählich an Menge ab, wird farblos, trübserös und versiegt schließlich gänzlich. Die Gelbfärbung scheint in erster Linie von den Polynukleären abzuhängen, doch sind wohl auch die Mononukleären beteiligt.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Rossi, E., L'intima struttura delle cellule nervose umane (Le Névraxe vol. VI, fasc. 3, 1904, p. 331—349 av. 16 Fig.).

Frische Stücke von Nervengewebe, 3 bis 4 mm dick, kommen in eine 2prozentige Lösung von Platinnitrat für 24 bis 48 Stunden. Dann in eine 0·5prozentige Goldchloridlösung, hierauf kurzes Abwaschen in destilliertem Wasser und Übertragen in eine einprozentige Lösung von Ameisensäure (24 Stunden im Dunklen). Dann wieder schnelles Abwaschen in destilliertem Wasser, steigender Alkohol, Paraffineinschluß. Die Methode ist sehr einfach und ergab immer gute Resultate bei Katzen, Hunden und beim Menschen, von welch letzterem Großhirn- und Kleinhirnrinde, Rückenmark und Spinalganglien untersucht wurden. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Ramón y Cajal, S., La méthode à l'argent réduit associée à la méthode embryonnaire pour l'étude des noyaux moteurs et sensitifs (Bibliogr. Anat. t. XIII, 1904, fasc. 5, p. 242—275 av. 12 figg. Dasselbe in Trab. Labor. Investig. Biol. Univ. Madrid t. III, 1904, fasc. 2, 3, p. 65—96 av. 12 figg.).

Verf. macht in dieser Arbeit einige weitere genauere Angaben in bezug auf seine Silberfärbung nach vorheriger Fixierung in ammoniakalischem Alkohol. 1) Frische Stücke der Medulla oblongata, des Mittelhirns etc. von Reptilien, Vögeln und jungen Säugetieren

kommen für 12 bis 24 Stunden zur Fixierung in die folgende Mischung:

Absoluter Alkohol	50 cc
Reines Ammoniak von 24° BAUMÉ	5 Tropfen.

Die Ammoniakmenge kann auf 8, 10 und 12 Tropfen erhöht werden, wenn man eine sehr zarte Imprägnation der Neurofibrillen wünscht. In solchem Falle dürfen die kleinen Stücke nicht länger als 12 bis 14 Stunden in der Fixierungsflüssigkeit verbleiben. Bei Stücken von Hühnerembryonen kann man die knorpelige Umhüllung des Nervensystems erhalten, doch ist es gut, die Muskelmassen zu entfernen. Die Stücke dürfen nicht dicker als 4 mm sein. 2) Nach einem Auswaschen von einigen Sekunden in destilliertem Wasser kommen die Stücke in eine reichliche Menge einer einprozentigen Silberlösung. Sind die Stücke verhältnismäßig groß, so ist eine 1·5prozentige Lösung besser. Die Stücke verbleiben, je nach ihrer Größe, 5 bis 7 Tage im Ofen bei 28 bis 32°. Man kann auch höhere Temperaturen verwenden, 35 bis 40° und mehr, aber dann kürzt sich das Reifestadium sehr ab und man riskiert, es nicht richtig zu treffen. 3) Nach einem Abwaschen in destilliertem Wasser (einige Sekunden), um das überschüssige Silbernitrat von der Oberfläche der Stücke zu entfernen, kommen diese für 24 Stunden in die folgende Mischung:

Hydrochinon oder Pyrogallol	1—1·5 g
Destilliertes Wasser	100 cc
Formol	5—10 „
Absoluter Alkohol	5—10 „

Das Hydrochinon ist im allgemeinen vorziehbar für embryonale Präparate, da es eine stärkere Färbung ergibt. Der Alkohol, der übrigens nicht unumgänglich notwendig ist, begünstigt in etwas das Eindringen der Reduktionsflüssigkeit in das Präparat. Diese Flüssigkeit dringt in die Mitte der Stücke nur in geringem Maße ein, man muß daher die Dicke derselben oft auf 2 mm vermindern, bevor man sie in das Reduktionsbad bringt, oder diesem Alkohol oder Glyzerin zusetzen, um das Eindringen zu erleichtern. Der Alkohol scheint außerdem den Kontrast zwischen den Achsenzylindern und dem Grunde zu erhöhen. Nichtsdestoweniger kann man, wenn man vor allem eine sehr genaue Differenzierung der Neurofibrillen wünscht, mehr als eine starke Färbung der Zellen und ihrer Achsenzylinder, auch den Alkohol fortlassen. Dann muß man aber die Ammoniak-

menge in der Fixierungsflüssigkeit erhöhen. 4) Abwaschen der Präparate in Wasser während einiger Minuten, dann Alkohol, Celloïdineinschluß, nicht zu feine Schnitte und gewöhnliche Montierung. — Verf. gibt dann noch einige allgemeine Regeln an. Zunächst ist die Höhe der Temperatur und die Dauer ihrer Einwirkung von Wichtigkeit. Man muß für jedes Objekt durch Versuche feststellen, wann die Reifeperiode eintritt. Sehr praktisch ist es, zu diesem Zwecke Stücke in die Reduktionsflüssigkeit zu bringen nach einem Aufenthalte im Ofen vom vierten Tage an bis zum achten. In diese Zeit fällt gewöhnlich die Reifeperiode, d. h. der Zeitpunkt, an dem die Neurofibrillen sich am schärfsten vom Grunde abheben und am besten gefärbt sind. Man kann aber auch mit bloßem Auge schon nach der Farbe den Erfolg beurteilen, wenn man die in dem Reduktionsbade liegenden Stücke durchschneidet: wenn das Nervengewebe bleigrau aussieht, so ist sicher ein körniger, grober Silberniederschlag vorhanden und die Imprägnation verfehlt. Wenn das Stück dagegen, selbst auf der Oberfläche, dunkelbraun oder schwarz erscheint, so ist das Resultat sehr gut. In diesem Falle hat das Präparat also gerade die richtige Zeit im Ofen verweilt, im ersten Falle dagegen ist es zu kurze oder zu lange Zeit darin gewesen. — Liegt einem weniger an einer guten Neurofibrillenfärbung als an einem sehr scharfen Kontraste zwischen Nervenfasern und Untergrund, so muß man weniger Ammoniak bei der Fixierungsflüssigkeit verwenden, eventuell sogar nur reinen Alkohol. — Ein dunkelroter Ton der zentralen Teile des Stückes mit einer grauen und körnigen Oberflächenpartie ist ein Zeichen, daß die Reife überschritten ist. In Schnitten von solchen Stücken findet man die markhaltigen Nervenfasern ziemlich gut imprägniert, aber die Zellen sind blaß oder ungefärbt und heben sich von dem Grunde nicht ab. Nichtsdestoweniger können manche Schnitte noch brauchbar sein. — Daß die Ammoniakmenge überschritten ist, oder daß die Einwirkungszeit zu lange gewesen ist, erkennt man an drei Zeichen: 1) Feinheit und schwache ziegelrote Färbung der Neurofibrillen. 2) Körniges und ungleichmäßiges Aussehen der oberflächlichsten motorischen Zellen, deren Dendriten unvollkommen gefärbt sind. 3) Marmoriertes Aussehen (apparence jaspée) der weißen Substanz: Braune Flecke und gelbe, durchscheinende Punkte durcheinander in verschieden großer Anzahl. Tiefere Teile der Stücke können indessen trotzdem noch brauchbare Schnitte liefern. Eine zu geringe Menge von Ammoniak verrät sich durch eine vollständige Färbung der Zellen und Achsenzylinder und

durch ein leicht körniges Aussehen ihrer Neurofibrillen. — Die so angewandte, hier beschriebene Silbermethode läßt gerade da Resultate erhalten, wo die Methoden von GOLGI und EHRLICH uns im Stiche lassen, so bei der Färbung der großen Zellen und der dicken Achsenzylinder. Aber auch sie hat ihre Mängel: 1) Einer dieser Mängel besteht in der zu schwachen Färbung der marklosen Fasern und darin, daß nur einige Arten der nervösen Endverzweigungen gefärbt werden. So kann man mittels der hier angegebenen Methode weder die Endästchen der feinen Kollateralen der weißen Substanz im Rückenmarke, im verlängerten Marke, im Gehirn etc. sehen, noch die pericellulären Nester bestimmter Zellen in den höheren Zentren, so in den DEITERschen und BECHTEREWschen Kernen etc. Dagegen ist die Imprägnation der Körbe und Nester der PURKINJEschen Zellen konstant und schön. Ebenso färben sich ausgezeichnet die Endkeulen von AUERBACH an den motorischen Zellen und den Zellen der oberen Oliven, allerdings nur, wenn man die Stücke zuerst 2 bis 3 Tage in absolutem Alkohol fixiert und dann 24 Stunden in ammoniakalischem Alkohol, bevor man sie in die Silberlösung bringt. Die hier angegebene Methode ist daher in bezug auf die Färbung der Endigungen der Achsenzylinder nicht sehr wirksam, die früher angegebenen Methoden sind in dieser Hinsicht wirksamer. Keine von allen aber ist imstande, alle Nervenendigungen darzustellen. 2) Ein weiterer Nachteil ist die Färbung sämtlicher Fasern und Zellen, wodurch ein großes Gewirr entsteht. 3) Ein dritter Nachteil, der allerdings weniger wichtig ist, ist der, daß bei dickeren Stücken die Peripherie überfärbt ist, weiter nach innen folgt dann eine günstige Zone. Um diesen Nachteil zu vermeiden, muß man entweder nur kleine Stücke verwenden, in welche die Silberlösung schnell eindringt, oder das Stück mit gleichgültigen Gewebsteilen umgeben, so daß diese dann die zu starke Färbung in sich aufnehmen. Man kann indessen diesen Nachteil einigermaßen vermindern, wenn man bei großen Stücken die folgenden Vorsichtsmaßregeln anwendet: 1) Man muß sie bis zur Reduktion im Dunkeln halten. 2) Man muß sie mit einer gleichgültigen Substanz umgeben (Gelatine, Blut etc.). 3) Während des letzten Tages im Ofen muß man den Gehalt an Silbernitrat vermindern. Diese letzte Maßregel ist die wirksamste. Nehmen wir z. B. an, daß die Stücke 6 Tage in einer Silberlösung von 1 bis 1·5 Prozent verweilt haben, so würde man sie die letzten 24 Stunden hindurch in einer Silberlösung von 0·75 bis 0·5 Prozent belassen. — Eine nachträgliche Goldfärbung verbessert Schnitte, welche zum Studium der moto-

rischen und sensiblen Kerne während ihrer Entwicklung dienen sollen, gewöhnlich nicht. Dagegen ist das Goldbad mitunter nützlich, wenn die Schnitte z. B. einen sehr schwach rötlichen Ton haben oder wenn man nur die feine Struktur des Neurofibrillennetzes untersuchen will. — Man kann auch die oberflächlichen Schnitte von einem Stücke benutzen, welche gewöhnlich zu stark imprägniert sind, wenn man sie für einige Minuten in eine schwache (0·25 bis 0·5prozentige) Lösung von Ferricyankalium bringt, die frisch zubereitet ist, dann in eine 5prozentige Lösung von unterschwefligsaurem Natrium. Nach Abwaschen in Wasser behandelt man sie mit Goldchlorid bis zur gewünschten Intensität. Ist die Goldfärbung zu stark geworden, so überträgt man sie wieder in die beiden eben genannten Lösungen, wodurch die Färbung abgeschwächt wird. Man muß hierbei sehr aufmerksam verfahren, erhält aber mitunter eine prachtvolle schwarze Färbung der Neurofibrillen und der Achsenzylinder auf einem sehr hellen oder selbst farblosen Grunde. — Verf. geht dann weiter darauf ein, daß es nötig sei, eine mechanische Vorrichtung zu konstruieren, um bei Serienschnitten immer genau dieselbe Faser sofort wieder einstellen zu können und gibt eine Methode an, wie sich das vorläufig wenigstens einigermaßen erreichen läßt. Es wird dieserhalb auf das Original verwiesen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Kozowsky, A. D., Zur Färbungsmethodik der Nervenfasern des Zentralnervensystems (Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXIII, 1904, Nr. 22, p. 1041—1042).

Verf. gibt eine Methode an, welche ähnliches zu leisten scheint, wie die Weigertsche. Die Gehirnstücke werden in gewöhnlicher Weise in Müllerscher Flüssigkeit gehärtet, die Härtung muß möglichst vollständig sein, je länger sie dauert, um so besser ist es. Einbettung in Celloïdin. Färbung in der folgenden Weise:

Hämatoxylin	10·0 g
Absoluter Alkohol	60·0 „
Destilliertes Wasser	60·0 „
Lithion carbonicum, gesättigte wässerige Lösung	10·0 „

Nach einer Woche ist die Farbe fertig. Die Schnitte bleiben hierin 24 Stunden bei Zimmertemperatur, dann abspülen in Wasser. Die schwarz gefärbten Schnitte werden in eine einprozentige Lösung von Kalium hypermanganicum übertragen und verbleiben darin, bis die graue Substanz braun wird. Dann kommen sie in Liquor ferri sesquichlorati (2- bis 3mal wechseln), bis die graue Substanz deutlich

weiß wird. Sorgfältiges Abspülen in Wasser, Alkohol, Xylol oder Origanum-Öl, Kanadabalsam. Die Nervenfasern erscheinen schwarz auf weißem Untergrunde. Wenn man schnell färben will, müssen die Schnitte in der Farbflüssigkeit über der Lampe 5 bis 6 Minuten erwärmt werden (zufällig dabei sich entflammender Spiritus ist zu löschen und die Erwärmung fortzusetzen bis zu der bestimmten Zeit). Nach Abkühlung Abwaschen der Schnitte in Wasser, sonst wie oben. Die ganze Färbung dauert in diesem Falle nur 30 bis 45 Minuten.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Cavalié, M., Les ramifications nerveuses dans l'organe électrique de la torpille (Torpedo Galvani) [Dispositif fibrillaire dans les gaines des fibres nerveuses et autour d'elles] (Bibliogr. anat. t. XIII, 1904, fasc. 4, p. 214—220 av. 5 figg.).

Die im vorigen Referate angegebene Methode von Nabias hat Verf. für das elektrische Organ angewendet nach vorheriger Fixierung mit einer 2prozentigen Osmiumsäurelösung. Die Präparate werden dann zuerst zerzupft und auf einem Objektträger ausgebreitet. Die Gramsche Lösung wurde 2 bis 5 Minuten angewendet, dann nach Gelbwerden der Präparate wurde mit einigen Tropfen destillierten Wassers abgewaschen; dann Zusatz von einigen Tropfen einer einprozentigen Goldchloridlösung (3 bis 6 Minuten, eine längere Einwirkung schadet nichts). Dann nach wiederholtem Abwaschen in destilliertem Wasser Zusatz von einigen Tropfen einer sehr schwachen Anilinwasserlösung oder einer sehr schwachen Resorcinlösung (1 bis 2 Minuten). Die violette Färbung der Präparate darf nicht zu dunkel werden. Dann wieder einige Tropfen destilliertes Wasser, Glyzerin und Deckgläschen. — Nach Injektion mittels einer Pravazschen Spritze von einigen Tropfen einer 2prozentigen Osmiumsäurelösung schneidet man das imprägnierte Stück heraus. In dem direkten Bereiche der Einstichöffnung sind die elektrischen Platten schwarz, weiterhin werden sie immer heller braun. Die eben genannte Goldfärbung ergibt verschiedene Resultate je nach der Stärke der ursprünglichen Färbung. Verf. hat ein klares Bild des von ihm entdeckten Fibrillenapparates nur an den hellbraun gefärbten Platten erhalten, d. h. an solchen Stellen, an denen die Osmiumsäure hinreichend stark fixierend gewirkt hat, ohne doch die Gewebe zu schwärzen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Grabower, Die Verteilung und Zahl der Nervenfasern in den Kehlkopfmuskeln und die Hinfälligkeit des Erweiterers der Stimmritze (Arch. f. Laryng. u. Rhinol. Bd. XVI, 1904, H. 2, p. 189—207 m. 2 Tfln.).

Bei den Kehlkopfmuskeln kann man sich recht gute Übersichtsbilder der Innervationsfigur verschaffen durch Anwendung der Osmium-Essigsäure-Methode von Nussbaum. Allerdings ist diese Methode so, wie sie angegeben ist, für den menschlichen Muskel nicht brauchbar. Verf. hat die betreffenden Muskeln frieren lassen, sie mit dem Mikrotom in Schnitte von 50 μ Dicke zerlegt und hat sie alsdann nach Vorbehandlung mit verdünnter Essigsäure durch Osmium gefärbt. Diese Methode gibt natürlich nur Übersichtsbilder, über die feinere intramuskuläre Nervenversorgung gibt sie keinen Aufschluß. Um diesen zu gewinnen, hat Verf. die Muskeln vergoldet, dann gehärtet und in Serienschnitte von 10 μ Dicke zerlegt. Die Muskeln wurden längs ihres Verlaufes geschnitten. Verf. hat nicht nur Muskelstücke in Paraffin eingebettet und dann geschnitten (hierbei werden die Muskelfasern durch das Paraffin immer mehr oder weniger auseinander gedrängt, so daß die Nervenfädchen sich verschieben und den Überblick erschweren), sondern auch die Muskeln in einzelne Stücke zerlegt und diese nach ihrer Vergoldung und Differenzierung lange Zeit in Glyzerin liegen lassen, das mit verdünnter Ameisensäure gemischt war. Nach einem Vierteljahre oder länger gelang es sehr leicht, diesen Muskelstücken kleine Stückchen zu entnehmen, welche außerordentlich weich waren, sich ohne jede Präparation auf dem Objektträger auseinander legten und durch den bloßen Druck des Deckglases derart entfalteten, daß man die Muskelfasern in ihrer natürlichen gegenseitigen Verbindung unter dem Mikroskope betrachten konnte. Außerordentlich klar konnte man dann die von Faser zu Faser ziehenden Nervenfädchen überblicken.

Schiefferdecker (Bonn).

Joris, H., Histogenèse du Neurone (Bull. Acad. R. Méd. Belgique 25 juin 1904, 44 p. av. 5 pl.).

Verf. benutzte das Nervensystem von menschlichen Foeten von 2, 5, 6 und 8 Monaten; von Kaninchen-, Katzen- und Hühnerembryonen von verschiedenen Entwicklungsstadien. Um künstliche Veränderungen in dem Baue möglichst auszuschließen, wurden sehr verschiedene Fixierungsmittel verwendet. Die besten Resultate ergaben: die Flüssigkeit von Bouin (Formol 10, Essigsäure 2, gesättigte wässe-

rige Pikrinsäurelösung 30), Anwendungsdauer 6 bis 24 Stunden; dann abwaschen in starkem Alkohol, absoluter Alkohol, Chloroform, Lack. Sodann Sublimat-Essigsäure (Sublimat 8 g, Essigsäure 5 cc, destilliertes Wasser 100 cc), Anwendungsdauer 4 bis 6 Stunden, auswaschen in jodiertem Wasser und in jodiertem Alkohol, Entwässerung, Einschluß. Endlich einprozentige Osmiumsäurelösung für einige Minuten; besonders für sehr junge Embryonen; auswaschen in einer wässerigen 5prozentigen Essigsäurelösung, Entwässerung, Einschluß. Gefärbt wurde in einer wässerigen Lösung von Toluidinblau von 0·5 auf 100 (1 bis Minuten) mit nachfolgender Fixierung der Färbung durch Ammoniummolybdat. Ferner mit Hämateïn und Rubin nach Apáthy. Um die chromophile Substanz zu untersuchen, wurde nach Nissl verfahren (Fixierung in Alkohol, Färbung mit Methylenblau). Das colloidale Gold wurde nach Fixierung der Embryonen in Sublimat-Essigsäure angewendet; die Reaktion tritt in den Geweben von sehr jungen Embryonen noch nicht ein. Auch die Methode von Bethe gelingt erst bei älteren Embryonen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Krebs, P., Die Nervenendigungen im Musculus stapedius mit besonderer Berücksichtigung der bei der Färbung angewandten Technik (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1905, p. 704—727 m. 1 Fig. u. 1 Tfl.).

Das kleine Objekt bot wegen der großen Menge von Bindegewebe, sowie wegen des eingebetteten Sesambeinchens bei der Herstellung der Präparate große Schwierigkeit. Nur Methylenblau- und Goldchlorid-Färbung lieferten in geeigneter Weise modifiziert brauchbare Präparate. Da aus ökonomischen Gründen von einer Injektion der Methylenblaulösung in die Blutbahn Abstand genommen werden mußte, wurden aus frisch geschlachteten gut ausgebluteten Tieren (Kalb, Rind, Pferd, Hund) die Muskeln möglichst schnell und zum großen Teil unter Anwendung einer Lupe herauspräpariert. Dieses geschah auf folgende Weise: Nach Eröffnung des Processus mastoideus wurden die Zwischenwände der Cellulae mastoideae bis auf den Canalis facialis Fallopii weggeräumt. Hierauf wurde der äußere Gehörgang bis zum Trommelfell abgemeißelt, dieses dann samt Hammer und Amboß entfernt, der Steigbügel aber, an seiner Sehne hängend, belassen. Weiter wurde dann in den Canalis facialis eingedrungen, das diesen von der Höhle des Musculus stapedius trennende Septum durchbrochen und der Muskel selbst mit einer

stumpfen Nadel von seiner knöchernen Umhüllung losgelöst. Köpfe von jungen Tieren sind zu bevorzugen, einmal wegen der leichteren Präparation, anderseits aber auch wegen der leichteren Färbbarkeit der Nerven. Wurde nach DOGIELS Vorschrift das Objekt auf Glaswolle in eine Schale gelegt und bei 37° C. im Thermostaten zuerst mit einer $^1/_4$- bis $^1/_8$prozentigen und dann von Zeit zu Zeit mit einer $^1/_{15}$prozentigen Methylenblaulösung angefeuchtet, so war immer, auch bei größter Sorgfalt, die Randzone, besonders aber die zu unterst liegende Hälfte stark überfärbt, während die innere Partie meist keine Spur von Färbung aufwies. Um das ganze Präparat möglichst gleichmäßig und gleichzeitig mit der Farblösung zu imbibieren, wurden die Präparate zunächst an Ort und Stelle (also meist dem Schlachthofe) in ein Schälchen mit $^1/_{15}$prozentiger Methylenblaulösung, die auf ca. 37° C. erwärmt war, gelegt und rasch, gut verschlossen und möglichst vor Abkühlung geschützt, zur weiteren Bearbeitung in das Laboratorium transportiert. Hier wurde das Schälchen auf ein Wasserbad von ca. 40° C. und mit diesem in ein Vakuum gesetzt. In diesem blieben die Präparate unter allmählicher Drucksteigerung 25 Minuten, um dann herausgenommen, und sofort auf gazeartiges Baumwollengewebe gebracht zu werden, das über eine etwas physiologische Kochsalzlösung [warum nicht nur Wasser? Ref.] enthaltendes Becherglas gebunden war. Dieses Becherglas wurde dann mit einem größeren Becherglase so überdeckt, daß der Luft freier Zutritt zu den Präparaten gestattet war, und das Ganze in einen Thermostaten von ca. 37° C. etwa 2 bis $2^1/_2$ Stunden gestellt. Die von Zeit zu Zeit notwendige Befeuchtung geschah mit $^1/_{20}$prozentiger, auf 37° C. erwärmter Methylenblaulösung. Da ein etwaiger Überschuß von Farbflüssigkeit von der Baumwollenunterlage aufgesogen wird, ist eine Überfärbung der Unterseite der Präparate ausgeschlossen. — Von der Fixierung in pikrinsaurem Ammonium mußte von vornherein abgesehen werden, da es ganz unmöglich war, die kleinen, überaus festen und bindegewebsreichen Muskeln mechanisch auch nur annähernd so weit zu isolieren, wie es zu einer, wenn auch nur oberflächlichen Betrachtung, notwendig gewesen wäre [?]. Die Fixierung wurde deshalb mit reichlicher, auf 0° C. abgekühlter, 7prozentiger Lösung von molybdänsaurem Ammonium unter Zusatz von 1 cc Wasserstoffsuperoxyd und einem Tropfen Salzsäure auf 10 cc Lösung nach BETHES Vorschrift ausgeführt. Fixierung mit reiner molybdänsauren Ammoniumlösung ohne den genannten Zusatz, wie sie DOGIEL empfiehlt, ergab immer unbrauchbare Präparate. Sie zeigten meistens

nur eine diffuse Färbung aller Gewebselemente mit einer nur schwachen Differenzierung der Nerven. In der Fixierungsflüssigkeit blieben die Objekte ca. 12 Stunden. Dann wurden sie ca. 1 Stunde in fließendem, destilliertem Wasser gewaschen, 1 Stunde mit 75prozentigem, eine weitere Stunde mit 96prozentigem Alkohol behandelt, durch Bergamottöl in Xylol gebracht und schließlich unter der Luftpumpe in Paraffin eingebettet. Unter der Luftpumpe wurde die Einbettung deshalb vorgenommen, weil dieselbe so schneller und vollständiger vor sich geht und die Überführung durch Chloroform und Chloroformparaffin umgangen wird [?]. 15 bis 20 μ dicke Schnitte zeigten bei gelungener Färbung zerstreut motorische Nervenendigungen. Um Übersichtsbilder zu erhalten, welche eine größere Anzahl von Endigungen im Zusammenhange mit den Nervenstämmchen zeigen, wurden dicke, ca. 30 μ dicke Schnitte mittels Xylol vom Paraffin befreit und dann ungefähr 8 Tage lang mit dickflüssigem Damarharz durchtränkt. Ein Zerfallen der Schnitte ist wegen des Bindegewebsreichtum, nicht zu befürchten, zumal auch die vorherige Behandlung mit Bergamottöl die Präparate vor Sprödigkeit schützt [?]. Nach der Durchtränkung wurden die Schnitte mit dem Spatel auf eine weiße, glatte Porzellanplatte übertragen und nach sorgfältiger Entfaltung durch Überrollen mit einem glatten, mit Xylol befeuchtetem Glasstab unter leichtem Druck ausgebreitet. Auf diese Weise wurden äußerst klare Bilder größerer Nervenstämme mit deren Seitenästchen erhalten, an welchen die Nervenendigungen deutlich hervortreten. Von einer Entkalkung des in dem Musculus stapedius vorkommenden Sesambeinchens mußte abgesehen werden, da die Färbung bei allen probierten Methoden entschieden litt. — Die verschiedenen Goldchloridmethoden gaben anfangs so gut wie keine Resultate. Der negative Erfolg war wohl zumeist der Schwierigkeit zuzuschreiben, die Elemente des bindegewebsreichen Objektes genügend zu isolieren. Deshalb wurde der Versuch gemacht, die Reduktion des Goldchlorids mit einer möglichst ausgiebigen Mazeration zu kombinieren. Dieses gelang mit Hilfe verdünnter Salzsäure unter gleichzeitiger Anwendung höherer Wärmegrade. Die herauspräparierten Muskeln wurden zunächst für 5 Minuten in ein Gemisch von 1 Teil Ameisensäure und 3 Teilen Wasser gebracht und mittels eines Glasstäbchens dünn ausgewalzt; dann kamen sie im Dunkeln in ein Gemisch von 4 Teilen $^1/_2$prozentiger Goldchloridlösung und 1 Teil Ameisensäure. Die Goldchloridlösung war vorher tagelang dem Sonnenlicht ausgesetzt gewesen (Apáthy) und das Gemisch zum Sieden gebracht und wieder abgekühlt worden.

In dieser Flüssigkeit wurden die Präparate unter den Rezipienten einer Luftpumpe gebracht, um so mittels Luftauspumpen und Luftzuströmen eine möglichst rasche und gleichmäßige Imbibition mit Goldlösung herbeizuführen. Man evakuiert hierbei, bis keine Bläschen mehr aus dem Objekt aufsteigen. Nach 8- bis 10stündiger Behandlung mittels verdünnter Ameisensäure (3 : 1) im Dunkeln folgte Mazeration in verdünnter Salzsäure (250 : 1). In dieser wurden die Präparate einige Male bis zum Sieden erhitzt und schließlich, um die Säure zu entfernen, in reinem Wasser aufgekocht. Nach einem jedesmaligen Erhitzen wurde die Flüssigkeit möglichst bis auf 0° C. abgekühlt, wodurch das im kochenden angesäuerten Wasser in Leim verwandelte Bindegewebe seine Zähigkeit und Klebfähigkeit verliert. Eine zu häufige und eine damit verbundene zu starke Reduktion des Goldchlorids muß vermieden werden. Einen Maßstab für die genügend starke Reduktion gibt die Verfärbung der Präparate aus dem Dunkelvioletten ins Dunkelbraune. Nach entsprechender Reduktion kamen die Muskeln für 48 Stunden in 75prozentigen Alkohol, dann auf 2 bis 3 Wochen in 20prozentiges ameisensaures Glyzerin [?], um schließlich nach Pressung zwischen zwei Objektträgern mit Nadeln zerzupft zu werden. Leider ist auch bei peinlichster Sorgfalt nicht für den Erfolg zu garantieren. Gut gefärbte Präparate können während der Alkoholbehandlung noch unbrauchbar werden.

E. Schoebel (Neapel).

Imhof, G., Anatomie und Entwicklungsgeschichte des Lumbalmarkes bei den Vögeln (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1905, p. 498—610 m. 30 Figg. u. 1 Tfl.).

Die Fixierung erfolgte entweder in Formol-Pikrinsäure (Formol, 10prozentig, 50 Teile, Pikrinsäurelösung, konzentriert, 50 Teile) oder Alkohol-Pikrinsäure (Alkohol, 96prozentig, 65 Teile, Pikrinsäurelösung, konzentriert, 35 Teile) oder aber Pikrinsäure-Sublimat (Pikrinsäurelösung, konzentriert, 1 Teil, Sublimatlösung, konzentriert, 1 Teil, Wasser, destilliert, 1 Teil). Aus den beiden ersten Gemischen kamen die Objekte nach 2 bis 4 Tagen in 70prozentigen Alkohol, aus dem letzteren nach 12 bis 24 Stunden in 50prozentigen und eventuell zur vollständigen Beseitigung des Sublimates in Jodalkohol. Als vorzügliches Färbemittel für den gegebenen Zweck erwies sich das saure Hämatoxylin von Ehrlich. Nach einer Färbedauer von 2 bis 5 Minuten wurden die Schnitte mehrere Stunden im fließenden Wasser bis zum Eintritt intensiver Nachdunkelung ausgewaschen. Nach Differen-

zierung in 5prozentiger Essigsäure und nochmaligem Auswaschen in destilliertem Wasser erfolgte rasches Nachfärben in einprozentiger alkoholischer Eosinlösung. Weiter kam noch die rasche doppelte Methode von GOLGI zur Anwendung. Zur Darstellung der Neuroglia wurde das Mark erwachsener Vögel 1 bis 2 Tage in Osmium-Bichromat-Gemisch (einprozentige Osmiumsäurelösung 1 Teil, 3·5prozentige Lösung von doppeltchromsaurem Kali 4 Teile) eingelegt und nach kurzem Abspülen in gebrauchte Silbernitratlösung 2 bis 3 Tage in eine frische 0·75prozentige Silbernitratlösung gebracht. *E. Schoebel* (*Neapel*).

Illing, G., Vergleichende makroskopische und mikroskopische Untersuchungen über die submaxillaren Speicheldrüsen der Haussäugetiere (Anat. Hefte, H. 70, 80 [Bd. XXVI, H. 2, 3], 1904, p. 389—526 m. 4 Tfln.).

Untersucht wurden die Drüsen von Hund, Katze, Pferd, Esel, Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Kaninchen. Dem soeben getöteten Tiere wurden die Drüsen möglichst schnell entnommen (wegen der Art des Herausschneidens vergleiche das Original). Sodann wurden sofort aus verschiedenen Stellen der Drüse kleine Würfel von nicht mehr als 5 mm Seite herausgeschnitten und sofort in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Als solche wurde durchgängig eine heiß gesättigte Sublimat-Kochsalzlösung mit Zusatz von etwas Eisessig benutzt, nachdem vorher zahlreiche Versuche mit der PODWYSOTZKYschen Lösung (Chromsäurelösung, einprozentig 15 cc, Sublimatlösung 5prozentig 15 cc, Osmiumsäurelösung 2prozentig 4 cc und Essigsäure 6 bis 8 Tropfen) ungünstige Resultate ergeben hatten. Nachdem die Präparate 24 Stunden in der Sublimatlösung fixiert worden waren, kamen sie auf 24 Stunden in fließendes Wasser, dann in steigenden Alkohol von 70, 80, 90 Prozent mit Zusatz von Jodtinktur, von 95 Prozent und schließlich in absoluten Alkohol. Paraffin- oder Celloïdineinbettung. Paraffinschnitte von durchschnittlich 2 bis 4 μ Dicke. Celloïdinschnitte 8 bis 10 μ dick (kleines Celloïdinmikrotom nach EBNER-WEICHSELBAUM). Aufkleben der Paraffinschnitte mit Wasser auf dem Objektträger. Färbung: Es sollte eine möglichst gute Schleimreaktion erhalten werden und die Sekretkapillaren sollten deutlich hervortreten. Um die Frage zu lösen, ob in den Drüsenzellen und eventuell in den Zellen der ausführenden Kanäle, beziehungsweise auch in dem etwa in den Drüsenhohlräumen und dem ausführenden Apparate vorhandenen Sekretmateriale Mucin enthalten sei oder nicht, hat Verf. ver-

schiedene Doppelfärbungen angewendet, bei denen die schleimhaltigen Zellen und Sekrete eine andere, und zwar deutlich hervortretende Färbung annehmen sollten als die übrigen Elemente und Gewebe der Drüsen. Verf. hat zu diesem Zwecke vier Doppelfärbungen benutzt: 1) Hämatoxylin (Delafield) mit Eosin oder Kongorot. 2) Muchämateïn mit Erythrosin. 3) Hämalaun mit Mucincarmin. 4) Hämalaun mit Bismarckbraun. Alle vier Methoden ergaben sehr befriedigende Resultate; es wurden daher die Schnitte jeder Drüse mindestens einmal mit jeder dieser vier Methoden gefärbt. Ferner versuchte Verf. Toluidinblau und Thionin. Hierbei machte er, wie schon viele andere Autoren, die Erfahrung, daß sich die mit diesen Farbstoffen behandelten Präparate nicht aufbewahren ließen, und daß die prächtige metachromatische Färbung sofort verschwand, wenn man sie in Alkohol brachte. Für eine momentane Untersuchung sind diese Methoden sehr gut verwendbar. Auch verschiedene Versuche des Verf., diese Färbungen haltbar aufzubewahren, hatten keinen Erfolg. Zum Studium der Sekretkapillaren und des Netzes der Kitt- und Schlußleisten wurde das Eisenalaun von M. Heidenhain mit immer gleich guten Resultaten benutzt, öfter mit Nachfärbung mit dünner wässeriger Lösung von Erythrosin oder Rubin S. Zum Nachweise von Muskelelementen wurden die Drüsenschnitte mit Pikrokarmin und Säurefuchsin-Pikrinsäure, zum Nachweise der elastischen Fasern mit Fuchsin-Resorcin gefärbt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Backmund, K., Entwicklung der Haare und Schweißdrüsen der Katze (Anat. Hefte, H. 79, 80 [Bd. XXVI, H. 2, 3], p. 317—383 m. 4 Tfln.).

Die Embryonen wurden sofort nach dem Tode des Muttertieres dem Uterus entnommen und, nachdem an verschiedenen Stellen der Haut Einschnitte gemacht worden waren, in toto für 24 Stunden in Zenkersche Flüssigkeit gelegt; dann ebenso langes Auswaschen in fließendem Wasser, dann steigender Alkohol im Dunklen. Um die Sublimatniederschläge zu entfernen, wurde dem 90prozentigen Alkohol Jodtinktur zugesetzt; in diesem 8 bis 14 Tage, dann Auswaschen in 90prozentigem mehrfach gewechseltem Alkohol. Es wurden neun Entwicklungsstadien untersucht: Jedesmal Stücke von der Haut des Ober- und Unterkiefers, des Scheitels, des Rückens, des Bauches (Achselhöhle und Inguinalgegend) und der Sohlenballen der Pfoten, ferner von der Aftergegend, der Außenfläche des Oberarms und des Oberschenkels. Einbettung in Paraffin, vollständige Schnittserien von

5 bis 7·5 und 10 μ Dicke. Längsschnitte, Quer- und Horizontalschnitte. Aufkleben der Schnitte mit Eiweißglyzerin. Färbung von jedem Präparate sowohl mit Hämatoxylin (Hansen) und Eosin als mit Eisenhämatoxylin und nachfolgender Pikrofuchsinfärbung nach van Gieson.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Glas, E., Über intraepitheliale Drüsen, Cysten und Leukocytenhäufchen der menschlichen Nasenschleimhaut (Arch. f. Laryngol. u. Rhinol. Bd. XVI, 1904, H. 2, p. 236—264 m. 1 Tfl.).

Zur Färbung der intraepithelialen Drüsen hat Verf. die folgenden spezifischen Schleimfärbemittel verwendet: Thionin, Toluidinblau, polychromes Methylenblau, Mucikarmin. Die ersten drei genannten Farbstoffe wurden später verlassen: Die Metachromasie, welche bei den in Wasser untersuchten Präparaten vorzüglich hervortritt, geht bei eingeschlossenen Präparaten bald verloren. Ist die Fixierung der Präparate eine günstige, so färben sich die Schleimzellen vorzüglich rotviolett mitten in dem blau gefärbten Grundgewebe. Längeres Auswässern schadet der Metachromasie nichts. Läßt man aber dann steigenden Alkohol einwirken, so blaßt die rotviolette Farbe ab. Die Präparate, welche in konzentrierter wässeriger Sublimatlösung fixiert wurden, sind in dieser Beziehung günstiger als die Alkoholpräparate, da sie die Farbe erst nach längerer Zeit abgeben. Wesentlich erleichtert wird infolgedessen die Untersuchung, wenn man gleich nach der Färbung in Wasser untersucht. Zur Aufhellung hat sich Nelkenöl besser als Xylol bewährt, da dieses letztere noch mehr Farbstoff auszog. Die Präparate blieben längstens 8 bis 14 Tage schön gefärbt. Bei Alkoholpräparaten erwies sich die polychrome Methylenblaufärbung als besser und haltbarer als die Thioninfärbung (Unna). Eine 10prozentige Lösung von Kaliumbichromat fixiert bei diesen Präparaten gut den Farbstoff (Unna). Verf. hat daher später ausschließlich die Mucikarminfärbung verwendet: Die mit Hämalaun vorgefärbten Präparate werden in einer Lösung von Mucikarmin (Stammlösung auf $^1/_{10}$ mit destilliertem Wasser verdünnt) einige Stunden gefärbt, mit Wasser abgespült, entwässert und aufgehellt.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Arnold, J., Über Bau und Sekretion der Drüsen der Froschhaut; zugleich ein Beitrag zur Plasmo-

somen-Granulalehre (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1905, p. 649—665 m. 1 Tfl.).

Zunächst ist hervorzuheben, daß über die Beschaffenheit der Drüsensekrete nur bei Anwendung bestimmter Fixierungsmittel und bestimmter Tinktionsmethoden Aufschluß zu erwarten ist. FLEMMINGsche Flüssigkeit, für Kernstrukturen besonders geeignet, wandelt das Sekret der Körnerdrüsen in blasige und fädige Massen um, während es an Formol- und Sublimatpräparaten aus scharf differenzierten Körnern zusammengesetzt erscheint. Es ist also unbedingt nötig, die Präparate des auf verschiedene Weise fixierten Materials zu vergleichen. Was die Färbungen betrifft, so ist für den Mucinnachweis Mucikarmin nicht zu entbehren, da an mit Thionin gefärbten Präparaten die Metachromasie nicht konstant und nicht dauerhaft ist. Im übrigen sind an Tinktionsmethoden notwendig das Eisenhämatoxylinverfahren nach HEIDENHAIN, Färbung nach HEIDENHAIN-BIONDI, PIANESE und VAN GIESON. Weiter sind unter andern noch empfehlenswert polychromes Methylenblau und die WEIGERTsche Fibrinfärbung. Zur Beurteilung der Kittleistenfrage verdienen, nach Ansicht des Verfassers, die Vorgänge der Indigabscheidung in den Interzellularräumen, wie sie nach Injektion von Indigkarmin in das Blut des lebenden Frosches erfolgen, mehr Beachtung als ihnen bisher zuteil geworden ist.

E. Schoebel (Neapel).

Bunting, P. L., The Histology of Lymphatic Glands: the general Structure, the Reticulum and the Germ Centres (Journ. of Anat. a. Physiol. vol. XXXIX, 1904, p. 55—68 w. 5 pltes.).

Die Untersuchungen wurden hauptsächlich an Paraffinschnitten ausgeführt. Zur Fixierung des Materials diente schwache FLEMMINGsche Lösung und ZENKERsches Gemisch, zur Färbung der Schnitte entweder Carmalaun allein oder kombiniert mit Pikrinsäure, Safranin oder Safranin und Kernschwarz; ferner Hämatoxylin kombiniert mit Eosin, Thionin oder HANSENS Pikrofuchsin; ferner die von THOMÉ empfohlene MALLORYsche Färbung[1] und die von RETTERER vorgeschlagene Modifikation des ISRAËL-PAPPENHEIMschen Gemisches von Eosin, Orange und Aurantia,[2] letztere kombiniert mit Hämatoxylin oder WEIGERTS Resorcin-Fuchsin. Eine Anzahl von Drüsen wurde außerdem frisch

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XIX, 1902, p. 236.
[2]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XIX, 1902, p. 105.

mit Silbernitratlösung behandelt und dann entweder nach Paraffineinbettung oder nach Gefrieren lassen geschnitten. Ferner stellte Verf. Auswaschpräparate her, indem er Gefrierschnitte zirka 15 Minuten in halb mit Wasser gefülltem Reagenzglas schüttelte und von Zeit zu Zeit den Effekt kontrollierte. *E. Schoebel (Neapel).*

Koiransky, Eugenie, Über eigentümliche Gebilde in den Leberzellen der Amphibien (Anat. Anz. Bd. XXV, 1904, No. 18, 19, p. 435—456 m. 6 Figg. im Text).

Verf. verwendete die Lebern von Salamander, Frosch und Triton. Fixiert wurde in dem Gemisch von Carnoy, Sublimat und Zenkerscher Lösung. Das erste ergab die besten Resultate. Je nach der Größe blieben die Stücke 12 bis 14 Stunden in den Fixierungsflüssigkeiten, dann kamen sie (nach Zenkerscher Flüssigkeit erst 24stündiges Auswässern im Brunnenwasser) in steigenden Alkohol bis zu absolutem, dann in Karbolxylol, Xylol, Paraffin. Die 3 bis 4 μ dicken Schnitte wurden mit Wasser oder nach der japanischen Methode auf den Objektträger aufgeklebt. Besonders günstig war eine Färbung mit Eisenhämatoxylin und Nachfärbung mit Pikrorubin oder Erythrosin. Nicht nur die Zelle, sondern auch die Anordnung des Bindegewebes und die Gallenkapillaren mit den Schlußleisten waren leicht nachweisbar. Auch mit Hämatoxylin-Eosin und Toluidinblau-Erythrosin wurde gefärbt. Feine Stäbchen, welche den Kern umfaßten, färbten sich mit Toluidinblau. Verf. hat auch verdünnte chinesische Tusche unter nicht sehr starkem Drucke vom Froschherzen aus in die Gefäße fließen lassen, um das feinere Verhalten der Gefäße zu den Zellen zu studieren. Die Fixierung in Trichloressigsäure und Färbung mit Resorcinfuchsin zur Darstellung der Trophospongienkanälchen nach Holmgren ergab keine verwertbaren Resultate. *Schiefferdecker (Bonn).*

Fichera, G., Über die Verteilung des Glykogens in verschiedenen Arten experimenteller Glykosurie (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 2, p. 273—339 m. 1 Tfl.).

Verf. führte seine Versuche an erwachsenen, gesunden Hunden aus und tötete sie zur geeigneten Zeit mittels Durchschneidung der großen Halsgefäße, so daß sie an Verblutung starben. Die Organstückchen wurden unmittelbar nach dem Tode entnommen und in absolutem Alkohol (der Alkohol muß öfter erneuert werden, um ihn ganz

wasserfrei zu erhalten, sonst könnte er das etwa vorhandene Glykogen lösen) oder in FLEMMINGscher Flüssigkeit fixiert. Paraffineinschluß. Färbung mit den für die einzelnen Gewebe geeignetsten Verfahren. Von den verschiedenen Färbungsmethoden des Glykogens hat Verf. die wichtigeren einer genauen Prüfung unterzogen. Nach EHRLICH gebraucht man folgende Mischung: LUGOLsche Flüssigkeit ein Teil auf 100 Teile einer Gummilösung von sirupartiger Konsistenz. Nach BARFURTH färbt und konserviert man die Präparate in einer Mischung von einem Teil LUGOLscher Flüssigkeit auf zwei Teile Glyzerin. Nach LANGHANS: 5 bis 10 Minuten in LUGOLscher Flüssigkeit, dann waschen in einer Mischung von einem Teil der offizinellen Jodtinktur auf 4 Teile absoluten Alkohol; Ol. origan. cret. Wird vorher mit Boraxkarmin (MAYER) gefärbt, so erscheinen die Kerne rot und das Glykogen braungelb. Nach LUBARSCH (Gentianaviolett) werden nach Härtung in absolutem Alkohol Schnitte hergestellt, die man in Boraxkarmin (MAYER) färbt und dann 1 bis 2 Minuten in eine leicht erwärmte Lösung von Gentianaviolett in Anilinwasser legt. Nach Auswaschen in Wasser bringt man sie für nur wenige Sekunden (5 bis 10) in LUGOLsche Lösung und trocknet sorgfältig; dann differenzieren in einer Mischung von zwei Teilen reinen Anilinöls auf einen Teil Xylol. Klärung in Xylol, Kanadabalsam. Kerne rot, Glykogen dunkelblau oder violett. Nach LUBARSCH (Jodhämatoxylin) färbt man die Schnitte 5 Minuten lang in Jodhämatoxylin (altes Hämatoxylin nach DELAFIELD 10 Teile, GRAM 10 Teile, destilliertes Wasser 5 Teile), bringt sie unmittelbar darauf in absoluten Alkohol, trocknet sorgfältig, dann Xylol, Kanadabalsam. Die Präparate bleiben 1 bis 2 Tage lang dem Tageslicht ausgesetzt. Nach BEST: Einbettung in Celloidin, Färbung der Schnitte mit Hämatoxylin (DELAFIELD), auswaschen in Wasser, Färbung mit Karmin (Karmin 0·5, Ammon. chlorat. 1, Lithium carbon. 0·2, destilliertes Wasser 50) 15 bis 30 Minuten in absolutem Alkohol 2 Teile und Liqu. ammon. caust. ein Teil, auswaschen in 70prozentigem Alkohol, Entwässerung in absolutem Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Von den angegebenen Methoden hat jede ihre Vorteile und Nachteile. BARFURTH: Äußerst durchsichtige Präparate, aber infolge der lösenden Wirkung des Glyzerins tritt die charakteristische Jodreaktion recht bald zurück. LANGHANS: Keine sehr schönen Präparate, die sich nur einige Monate halten. LUBARSCH (Gentianaviolett): Man braucht sehr gute Lösungen und viel Zeit; dabei geht das Glykogen durch die zahlreichen Übertragungen leicht in Lösung über; viele Organe versagen auf die Glykogenreaktion, und diese tritt eigentlich nur ein in

der Leber, in den Muskeln und in der Plazenta. Bei der Lubarschschen Jodhämatoxylinmethode handelt es sich nicht um eine wirkliche Färbung des Glykogens, sondern um eine Kombinierung von Jodreaktion und Hämatoxylinfärbung. Man erreicht mit dieser Methode selten gut gelungene Färbungen und muß häufig die Schnitte in reiner Lugolscher Lösung nachfärben. Die Methode von Best eignet sich nur für die schwer löslichen Glykogensorten, da die leicht löslichen infolge der vielen Behandlung mit wasserhaltigen Mitteln zum Schwinden gebracht werden. Mit diesem Verfahren kommen im Knorpel und im geschichteten Epithel selbst die kleinsten Mengen Glykogen zum Vorschein, während es sich bei Hoden, Leber, Muskeln und Hypernephromen nicht bewährt. Die Ehrlichsche Methode bietet, wenn sie auch die gleichzeitige Untersuchung auf Glykogen und auf den Bau der Zellen nicht gestattet, doch die Vorteile, äußerst einfach und kurz zu sein, das Glykogen nicht aufzulösen, es im Gegenteil in jedem Gewebe in einer schönen mahagoniroten Färbung hervortreten zu lassen. Verf. benutzte daher dieses letztere Verfahren. Er verwandte möglichst feine Schnitte und möglichst geringe Mengen der Färbemischung, um nicht undeutliche Präparate zu bekommen, bei welchen eine eventuelle Anhäufung von Jodgummi das Vorhandensein von Glykogen hätte vortäuschen können. Eine Verwechslung von Amyloid mit Glykogen ist leicht zu vermeiden, da man beide durch viele Mittel unterscheiden kann, wie Verf. ausführt. Der Nachweis von Zucker, Aceton und Eiweiß im Urin wurde mit den einfacheren und sicheren der bekannten Verfahren ausgeführt.

Schiefferdecker (Bonn).

Cameron, J., The Development of the Retina in Amphibia, an Embryological and Cytological Study (Journ. of Anat. a. Phys. London vol. XXXIX, 1905, p. 135—152 w. 2 pltes.).

Zur Fixierung der Netzhäute wurde mit befriedigendem Erfolg ein Gemisch aus 90 Teilen 70prozentigen Alkohol, 3 Teilen Eisessig und 7 Teile Formol angewendet. In der Fixierungsflüssigkeit blieben die Objekte eine Woche, kamen dann direkt für 24 Stunden in 90prozentigen Alkohol, zweimal für je 24 Stunden in absoluten, um nach 24stündiger Behandlung mit auf 55° C. erwärmtem Zedernholzöl in Paraffin eingebettet zu werden. Gefärbt wurden die mit Wasser aufgeklebten Schnitte entweder mit Eisenhämatoxylin oder Hämalaun, kombiniert mit Eosin oder Methylblau-Eosin. Schließlich wurden die

entwässerten Schnitte vor dem Balsameinschluß mit Lavendelöl aufgehellt. *E. Schoebel (Neapel).*

Sala, G., Beitrag zum Studium der feineren Struktur der Netzhaut (Anat. Anz. Bd. XXV, 1904, No. 9, 10, p. 246—249 m. 2 Tfln.).

Verf. hat die Silbermethode von Cajal angewendet. Er hat die Netzhäute 4 bis 5 Tage lang in einer ein- bis 1·5prozentigen Silbernitratlösung im Ofen bei 37° gehalten, dann nach Auswaschen in der von Cajal angegebenen Weise reduziert. Die Resultate waren sehr günstig. *Schiefferdecker (Bonn).*

Meves, F., Zur Wirkung von Säure auf die roten Blutkörperchen der Amphibien (Anat. Anz. Bd. XXV, 1904, No. 9, 10, p. 240—245).

Kneuttinger hat im Jahre 1865 beschrieben, daß die roten Blutkörperchen des Frosches bei der Einwirkung von Säure (7·2prozentige Essigsäure) sich unter Erhaltung der elliptischen Scheibenform, plötzlich wie mit einem Rucke nach allen Richtungen erweitern. Verf. hat bei seinen Blutuntersuchungen auch diese Säureeinwirkung (7- bis 10prozentige Essigsäure) auf die roten Blutkörperchen der Amphibien untersucht. Er verfuhr in der Weise, daß er einen Tropfen frischen Blutes und einen Tropfen einer 7- bis 10prozentigen Essigsäure in einiger Entfernung voneinander auf den Objektträger setzte und beide Tropfen mit einem großen Deckglase zusammen eindeckte, so daß sie sich erst dann vereinigten. Bringt man das Präparat unter das Mikroskop, so ist an der Berührungsstelle selbst die Säurewirkung in der Regel schon abgelaufen. Man muß in einiger Entfernung davon beobachten, um noch die ersten Veränderungen wahrzunehmen. Verwendet man eine Essigsäure, der man 0·5 bis 1 Prozent Methylgrün zugesetzt hat, so sieht man, daß der Kern erst im Momente des Erblassens beginnt sich mit dem Farbstoffe zu imbibieren. *Schiefferdecker (Bonn).*

C. Bakterien.

Heller, O., Die Rothbergersche Neutralrotreaktion auf Gelatine bei 37° (Centralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 1).

Verf. unterwarf den Rothbergerschen Neutralrotagar und die von Oldekop angegebene Verbesserung dieses Reaktionsnährbodens (0·3 Prozent Agar) einer Prüfung mit einer größeren Anzahl Bakterien, die der Coligruppe teils angehören, teils nahestehen. Er konnte feststellen, daß die Veränderung des Neutralrotfarbstoffs bei dem Oldekopschen Nährboden schneller und deutlicher als bei dem Rothbergerschen Agar eintritt, jedoch konnte er noch bessere Resultate erhalten, wenn er der gewöhnlichen Laboratoriumsgelatine in Reagensgläschen vier Tropfen sterilisierter, gesättigter, wässeriger Lösung von Neutralrot zusetzte und die geimpften Röhrchen in den Brustschrank von 37° stellte; hierbei trat deutliche Fluoreszenz schon nach 6 Stunden ein, die lange bestehen bleibt und in ihrer Färbung weder von dem Nährboden noch durch den Luftsauerstoff beeinträchtigt wird. *W. Hoffmann (Coblenz).*

Rullmann, W., Über das Verhalten des im Erdboden eingesäten Typhusbazillus (Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 4).

Als Fortsetzung seiner schon früher — obige Zeitschrift Bd. XXX Nr. 8 — über denselben Gegenstand mitgeteilten Untersuchungsergebnisse berichtet Verf. über Resultate, die er bei dem Einsäen von Typhusbazillen in vorher sterilisierte Erdproben erhielt. Er benutzte hierzu sogenannte Saftflaschen, die zu ein Drittel gefüllt, jedesmal nur 50 g Erdmaterial enthielten. Als Erdproben benutzte er gewaschenen roten Flußsand, durchgesiebten Humus und Bauschutt. Bei der Sterilisation der Erden stieß Verf. auf manche Schwierigkeit, zumal da er eine sehr widerstandsfähige, sporentragende Bakterienart antraf, die auf den Platten sehr typhusähnlich wuchs und hiernach später zu Trugschlüssen Veranlassung geben konnte. In verschieden großen Zeitabschnitten entnahm er Proben und versuchte, Typhusbazillen zu isolieren, die er mit besonderer Berücksichtigung eventuell eingetretener Änderungen in ihrem morphologischen, kulturellen und biologischen Verhalten prüfte.

Er konnte die eingesäten Typhusbazillen in den zuletzt staubtrocken gewordenen Erden noch nach 18 Monaten nachweisen.

Die isolierten Mikroorganismen hatten sich morphologisch und kulturell nicht verändert, dagegen war eine Differenz in ihrem biologischen Verhalten zu verzeichnen, indem die Agglutination nicht mehr in einer Verdünnung von 1 : 10·000 bis 1 : 40·000, sondern nur noch von 1 : 2500 eintrat.

Nur auf den Humusplatten beobachtete er auch kulturelle Veränderungen, indem von diesen Erdproben zunächst Kolonien wuchsen, die mehr dem Bacterium coli glichen, aber bei weiteren Übertragungen wieder durchaus die Charakteristika der Typhusbazillen zeigten.

Die drei verschiedenen Erdsorten hatten verschiedenen Einfluß auf die Lebensdauer der Typhusbazillen, indem sie in dem an organischem Nährmaterial armen Flußsand früher zugrunde gingen, als in dem Humus und dem Bauschutt. *W. Hoffmann (Coblenz).*

Gaehtgens, W., Der Bacillus jasmino-cyaneus und der Bacillus flavo-aromaticus, zwei neue Farbstoff bildende Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 2, p. 129).

Wie auch von anderer Seite schon öfters erwähnt, ist die Bakterienflora bei Darmkatarrhen, im besonderen bei Typhus und typhusähnlichen Erkrankungen im allgemeinen eine von der Norm abweichende. In dem hygienischen Institut der Universitat Straßburg wurden in letzter Zeit bei der Untersuchung typhöser Stuhlgänge zwei besondere Arten gefunden, die sich durch Geruch und Farbstoffbildung auszeichnen.

Der Verf. hatte diese beiden Bakterienarten genauer studiert. Die eine, B. jasmino-cyaneus, wurde mittels der Ficker-Hoffmannschen Coffeïnbouillon isoliert. Er fand sich meist in Reinkultur, wodurch gegebenenfalls der Nachweis der Typhuserreger sehr erschwert wurde; abgesehen von der Coffeïnbouillon fand er sich auch auf den Malachitgrünagarplatten nach Lentz-Tietz. Diese Bakterienart steht dem B. pyocyaneus sehr nahe und unterscheidet sich hauptsächlich durch ihren ausgesprochenen Jasmingeruch; auch die Virulenz für Tiere ist vorhanden. Die zweite Bakterienart ist von dem Verf. isoliert und mit dem Namen B. flavo-aromaticus belegt worden; sein kulturelles Verhalten beansprucht kein besonderes Interesse, jedoch ist er nicht tierpathogen. *W. Hoffmann (Coblenz).*

Doerr, R., Beobachtungen über bazilläre Dysenterie (Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 4, p. 420).

Verf. hatte Gelegenheit, in einem Jahre eine Ruhrepidemie in Krakau und in Wien bakteriologisch zu untersuchen. Er fand bei der ersten den Shiga-Kruse-Dysenteriebazillus, während es ihm in Wien unter 29 Fällen 12 mal gelang, den Flexnerschen Dysenterieerreger nachzuweisen. Zur Isolierung benutzte er durchweg den Drigalskischen Typhusnährboden, jedoch zog er zur Identifizierung noch Traubenzuckeragar, den Barsiekowschen Nährboden, Kartoffeln, Bouillon, Gelatine, Peptonwasser und Lakmusmolke und schließlich hochwertiges Immunserum heran. Im allgemeinen fand er völlige Übereinstimmung der einzelnen Individuen, nur wichen seine isolierten Shiga-Kruse-Stäbchen von einem ihm von Kruse übersandten Stamm betreffs des Wachstums in Bouillon ab.

Von Interesse ist die Beobachtung des Verf., die auch von anderer Seite schon mitgeteilt war, daß im Anfang der Erkrankung die Ruhrerreger fast in Reinkultur in den Stühlen vorhanden waren und daß die üblichen Darmbakterien, besonders Bacterium coli, nummerisch in den Hintergrund traten. *W. Hoffmann* (*Coblenz*).

Stroß, O., Über das Wachstum der Gonokokken auf serumhaltigen Nährböden (Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 4, p. 491).

Nach einer umfassenden Literaturübersicht berichtet Verf. in eingehender Weise über seine Versuche, die das quantitativ verschiedene Wachstum der Gonokokken auf menschen- und tierserumhaltigen Nährböden erklären sollten. Es sind die verschiedensten Variationen im Zusatz einer großen Anzahl von Eiweißkörpern vorgenommen worden, auf die im einzelnen hier nicht eingegangen werden kann; von Interesse dürfte es wohl sein, daß Verf. mit zentrifugierten und gewaschenen roten Blutkörperchen regelmäßig die Gonokokken in üppiger Weise zum Wachstum bringen konnte, wenn er die Blutkörperchen im Verhältnis von 1 : 10 Agar zusetzte.

Im übrigen fand Stross, daß die verschiedenen Tiersera von Tier zu Tier stark schwankende Eigenschaften haben, während Menschensera regelmäßige Resultate geben; bei den Tierseris ist noch hervorzuheben, daß sie, in kleiner Menge dem Agar zugesetzt, wachstumfördernd wirken, während bei Zusatz größerer Mengen überhaupt kein Wachstum erfolgt. Der Verf. schließt hieraus, daß in den Tier-

seris für Gonokokken besondere wachstumhemmende Stoffe vorhanden sein müssen. *W. Hoffmann (Coblenz).*

Dschunkowsky, E., u. Luhs, S., Apparat zum sterilen Blutentnehmen zwecks Untersuchung (Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig. Bd. XXXVIII. H. 3, p. 367).

Verff. verfolgten die Absicht, einen bequem zu handhabenden Apparat zur sterilen Gewinnung einer kleineren Menge nichtdefibrinierten Blutes und dessen bakteriologischer Untersuchung zu konstruieren und empfehlen zu diesem Zweck folgenden Apparat:

In der Hauptsache besteht er aus einer größeren Flasche (3 bis 100 cc) mit langem ausgezogenem Halse, auf den ein gleich weites, ca. 10 cc langes Gummirohr gezogen wird. In die Flasche gießt man bis zu ein Zehntel des Inhalts Natrium citricum, um eine Gerinnung des Blutes zu verhüten. Auf das Gummirohr kommt behufs späteren Verschlusses ein Quetschhahn, sodann wird mittels einer Spritze die Flasche bis zu einem gewissen Grade luftleer gemacht, der Quetschhahn geschlossen und an das freie Ende des Gummischlauches wird eine Hohlnadel angebracht, die durch ein passendes Reagensgläschen umschlossen werden kann; in dieser Verfassung wird der ganze Apparat sterilisiert und ist dann jederzeit fertig zum Gebrauch. *W. Hoffmann (Coblenz).*

Kral, F., Über einfache expeditive Geißelfärbungsmethoden (Verh. d. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte, 74. Vers. z. Karlsbad, II. Teil, 2. Hälfte [erschienen 1903], p. 621).

Um auf einem einfachen und expeditiven Wege die Geißeln aller beweglichen Bakterien in allen Intensitätsabstufungen zu färben, ist ausreichend eine $1\,^1/_2$ Minuten lange Einwirkung einer genau nach Löfflers Vorschrift bereiteten und in luftdicht verschlossenen Gefäßen aufbewahrten Beize mit darauffolgender Wasserspülung und ebenso langer Färbung mit einprozentiger wässeriger Fuchsinlösung oder 5 bis 8 Sekunden langer Färbung mittels Ziehlschen Karbolfuchsins unter Wegfall von Alkoholentfärbung und Erwärmen. Hierbei sind vollkommen niederschlagsfreie Stellen in den Präparaten weit häufiger als bei nach andern Methoden behandelten Präparaten. Wenn man die Beizdauer entsprechend verlängert, so kann man dieselbe Beize auch nach eingetretener Abschwächung ihres Beizvermögens jahrelang benutzen.

Um sofortige Geißelfärbungen vornehmen zu können, ohne daß man über eine ausgereifte und brauchbare Beize verfügt, verfahre man nach folgendem Recept: Von einer Tanninfuchsinlösung aus 100 Teilen Tannin, 8 Teilen kristallisiertem Fuchsin und 400 Teilen Wasser bringt man 20 cc in ein schmales Becherglas und gießt unter lebhaftem Schwenken dieser Lösung eine Lösung von 5 g Ferrosulfat in 20 cc Wasser hinzu. Nachdem man das Gemisch, bedeckt mit einem Uhrschälchen, 15 Minuten der Ruhe überlassen hat, ist sofort mit der Geißelfärbung zu beginnen, weil das Beizvermögen dieser Beize binnen kurzer Zeit verloren geht. Die Beizdauer beträgt eine bis $1^1/_2$ Minuten; man färbt nach Spülung mit Wasser, ohne das Deckgläschen zu trocknen, 8 Sekunden lang mit Karbolfuchsin, gleichfalls ohne Erwärmen und ohne Entfärben mit Alkohol nach dem Beizen. Beide Methoden sollen sich auch sehr gut zu einer negativen Kapseldarstellung eignen.

Um möglichst normale Geißellagerung zu erzielen, läßt man die Bakterienmasse sich spontan ohne mechanische Intervention in Wasser, eventuell bei Brutwärme, verteilen, benetzt eine Seite der Deckgläschen durch Berühren des Flüssigkeitsspiegels, saugt rasch die überschüssige Flüssigkeit ab und läßt die horizontal gelagerten Deckgläschen unter einer Glasglocke trocknen.

Wangerin (*Halle a. S.*).

Kral, F., Zur Differenzierung und objektiven Darstellung des Zellinhaltes von Hefe- und Spaltpilzen (Verh. d. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte, 74. Vers. z. Karlsbad, II. Teil, 2. Hälfte [erschienen 1903], p. 621—622).

Um bei der mikrophotographischen Darstellung der lebenden Hefe- und Bakterienzelle auf dem Negativ Zellkontur und -einschlüsse gut differenziert zu erhalten, ist es erforderlich, die Zellen mit Reagentien zu behandeln, welche, ohne ihre Größenverhältnisse zu beeinflussen, verschiedene Reaktionen auf Zellmembran, Vakuolen, Fetttröpfchen, Körnchen, Plasma etc. auslösen. Am geeignetsten für diesen Zweck hat Verf. die Ernstsche Vitalfärbung mit Neutralrot und die Glykogenreaktion mittels Lugolscher Lösung, beide einzeln oder miteinander kombiniert, befunden. Bringt man Bakterien, Hefen, Eumyceten und Algen in Wasser auf das Deckglas und fügt ein kleines Tröpfchen Jodjodkaliumlösung zu, so weisen sie in ihren einzelnen Zellbestandteilen, je nach der Beschaffenheit derselben, die gelbe Eiweiß-, eventuell auch die braunrote Glykogen- und die blaue

Granulosereaktion auf, also Farben, welche sich vorzüglich zur Mikrophotographie eignen. — Neben Neutralrot hat Verf. zur Vitalfärbung auch Methylenblau, Safranin und Thionin verwendet. Die besten Resultate erzielte er mit Neutralrot an Hefepilzen; die Einschlüsse der Zellen und ihrer Vakuolen weisen bei der Behandlung mit Spuren von Neutralrot einen außerordentlichen Reichtum an den verschiedensten Farbtönen auf. Setzt man zu einem solchen Präparate ein Tröpfchen Lugolscher Lösung zu, so vollzieht sich ein plötzlicher Farbenwechsel des in allen Schattierungen von Rot gefärbten Zellinhaltes in Gelb bis Braun. Einzelne dunkelrote Körnchen und Zellen verändern ihre Farbe nicht; dagegen können einzelne Zellteile die blaue Granulosereaktion annehmen, andere farblos bleiben. Bakterien, die vorher gleichmäßig rot gefärbt waren, können nun braun bis dunkelbrau, fast schwarz erscheinen. Es treten demnach Farbreaktionen auf, wie sie für die Mikrophotographie nicht erwünschter sein könnten. Man erhält von solchen Präparaten schon ohne Lichtfilter und auf nicht orthochromatischen Platten gute Resultate, kaum noch mit kurzwelligem Licht (Zettnow- oder Ferricyankaliumfilter) und orthochromatischen Platten. *Wangerin* (*Halle a. S.*).

D. Botanisches.

Zacharias, E., Über die Cyanophyceen (Mitt. a. d. botan. Staatsinstituten in Hamburg, 3. Beih. z. Jahrb. d. Hamburg. wissenschaftl. Anstalten 1904, p. 47).

Die Arbeit bringt in erster Linie eine ausführliche kritische Besprechung der Kohlschen Bücher über Cyanophyceen. Die neuen eigenen Versuche des Verf. beziehen sich hauptsächlich auf das mikrochemische Verhalten der Cyanophycinkörner und ihre Löslichkeit in verdünnten Säuren. *Küster* (*Halle a. S.*).

Claussen, P., Zur Entwicklung der Ascomyceten. Boudiera (Botan. Zeitg. Bd. LXIII, 1905, Abt. 1, H. 1, 2, p. 1).

Zum Fixieren des Materials benutzte Verf. folgende Flüssigkeiten:

1) Schwächere Flemmingsche Flüssigkeit: Dauer der Fixierung 10 Minuten, mehrstündiges Auswaschen in fließendem Wasser. Über-

tragung in 35prozentigen Alkohol, Härtung in üblicher Weise. Fixiert die Asci gut und die schraubigen Initialorgane.

2) MERKELsche Flüssigkeit: Dauer der Fixierung etwa 2 Minuten, mehrmaliges Auswaschen in 50prozentigem Alkohol. Härtung. Fixiert die Initialorgane gut.

3) VOM RATHsche Flüssigkeit II, 1 + 20. Dauer der Fixierung 2 Minuten, gründliches Auswaschen mit 50prozentigem Alkohol, Härtung.

Bei der Einbettung in Paraffin verfährt man nach den üblichen Methoden, doch sind allzu hohe Temperaturen (über 55° C.) zu meiden. Schwierigkeiten macht die Färbung der Kerne in den schraubigen Initialorganen, da das Plasma die Farbstoffe so stark speichert. Die besten Resultate bei Untersuchung der Schraubenkerne liefert FLEMMINGS Safranin-Gentianaviolett-Orange G-Verfahren. HEIDENHAINS Hämatoxylin-Eisenalaun gibt ebenfalls gute Resultate, wenn man mit Eosin-Nelkenöl gegenfärbt; die Ascuskerne sind leicht zu färben, — am besten mit FEEMMINGS Dreifarbengemisch.

Hat man nach FLEMMING oder MERKEL fixiert, so färbe man mit Safranin-Gentianaviolett-Orange G, nach Fixierung in VOM RATHscher Flüssigkeit mit HEIDENHAINS Hämatoxylin.

Küster (Halle a. S.).

Senft, E., Über den mikrochemischen Zuckernachweis durch essigsaures Phenylhydrazin (Sitzber. d. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXIII, 1904, Abt. 1, p. 3).

Verf. modifiziert die FISCHERsche Phenylhydrazinmethode vor allem dadurch, daß er beide Komponenten des Reagens, das salzsaure Phenylhydrazin wie das essigsaure Natrium in Glyzerin im Verhältnis von 1 : 10 löst. Beide Verbindungen sind in Glyzerin leicht löslich. — Die Lösungen sind jahrelang haltbar; das Nachdunkeln der Phenylhydrazinlösung beeinträchtigt die Reaktion in keiner Weise.

Verf. benutzt keine in Wasser aufgeweichten Schnitte — wegen der Löslichkeit des Zuckers —, sondern frisches Material, Alkohol- oder Glyzerinmaterial oder bei trockenen Objekten — Droguen etc. — unaufgeweichte Schnitte. Auf dem Objektträger wird von beiden Lösungen je ein Tropfen aufgetragen, die beiden Tropfen gut vermischt und die Schnitte hineingelegt. Die Präparate werden alsdann am siedenden Wasserbad eine halbe Stunde erwärmt. Schon beim

Abkühlen kann man gewöhnlich unter dem Mikroskop sehr schöne Garben und Büschel der Osazonkristalle wahrnehmen. — Das Erwärmen der Schnitte dient zumeist nur zur Beschleunigung der Reaktion; in vielen Fällen tritt auch in der Kälte schon die gleiche Reaktion ein, — allerdings entstehen nur kleine Kristallbüschel und vorzugsweise Sphärokristalle. An Schnitten, welche nicht erhitzt worden sind, kann man auch die Lokalisation des Zuckergehaltes studieren. — Je wasserreicher die untersuchten Gewebe sind, um so schöner fallen die Osazonkristalle aus.

Die Weiterbehandlung der nach des Verf. Methode untersuchten Schnitte macht keine besonderen Schwierigkeiten, nur ist die Anwendung von Alkohol und alkoholischen Lösungen zu vermeiden; daher ist auch Kanadabalsam ausgeschlossen. Gegen 30prozentige Kalilauge sind die Osazonkristalle widerstandsfähig, auch gegen 60prozentige Chloralhydratlösung hinreichend resistent. Zur Anfertigung von Dauerpräparaten verwende man Glyzerin und Glyzeringelatine.

Küster (Halle a. S.).

Albanese, N., Ein neuer Fall von Endotropismus des Pollenschlauches und abnormer Embryosackentwicklung bei Sibbaldia procumbens L. (Sitzber. d. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXIII, 1904, Abt. 1, p. 653).

Verf. färbt die Präparate mit Hämatoxylin nach Heidenhain, um den Verlauf des Pollenschlauches im Gewebe des Gynaeceums deutlich zu machen. — Safranin färbt die Kerne des Embryosackes und besonders die Nukleolen kräftig. *Küster (Halle a. S.).*

Ernst, A., Zur Kenntnis des Zellinhaltes von Derbesia (Flora Bd. XCIII, 1904, p. 514).

Die von ihm gefundenen Eiweißkristalloïde im Zellinhalt von Derbesia prüfte Verf. mit verschiedenen Reagentien. Sie färben sich mit Jod etc. und nehmen Eosin, Säurefuchsin, Safranin, Methylenblau, Methylviolett u. a. reichlich auf. Werden kristalloïdhaltige Schläuche in einer wässerigen Tanninlösung gebeizt und nach sorgfältigem Waschen in Wasser in einprozentige Osmiumsäure gebracht, so färben sich die Kristalloïde braun, Beizung mit 25prozentiger Tanninlösung und Behandlung des ausgewaschenen Materials mit Eisensulfat bedingt tiefblaue bis schwarze Färbung.

Küster (Halle a. S.).

Woycicki, Z., Einige neue Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von Basidiobolus Ranarum (Flora Bd. XCIII, 1904, p. 87).

Gute Resultate erzielte Verf. durch Fixierung mit MERKELscher oder KAISERscher Flüssigkeit. Gefärbt wurde mit Hämatoxylin nach HEIDENHAIN oder DELAFIELD. *Küster (Halle a. S.).*

Björkenheim, C. G., Beiträge zur Kenntnis des Pilzes in den Wurzelanschwellungen von Alnus incana (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV, 1904, p. 128).

Verf. fixierte sein Material in MERKELscher Flüssigkeit und brachte es nach dem Auswaschen in Alkohol steigender Konzentration bis 98 Prozent zur dauernden Aufbewahrung. Die Schnitte wurden mit ZIEHLschem Karbolfuchsin gefärbt. — Verf. empfiehlt besonders Freihandschnitte an fixiertem und frischem Material auszuführen. Den Zerfall der Hyphen in einzelne stäbchenartige Glieder konnte Verf. bei Untersuchung nicht eingebetteten Materials nie konstatieren, vielleicht handelt es sich bei dem Zerfall um eine Folge der Einbettung (Wasserentziehung). *Küster (Halle a. S.).*

Michniewicz, H. R., Über Plasmodesmen in den Kotyledonen von Lupinus-Arten und ihre Beziehung zum interzellularen Plasma (Österr. Bot. Zeitschr. Bd. LIV, 1904, p. 165).

Um in den Zellwänden der Kotyledonen von Lupinus angustifolius die Plasmodesmen sichtbar zu machen, kocht Verf. angeschnittene Kotyledonen einige Minuten mit absolutem Alkohol. Dann werden Schnitte aus den oberflächlichen, völlig entwässerten Teilen angefertigt und in konzentrierte Chlorzinkjodlösung übertragen.[1]

Küster (Halle a. S.).

[1]) Nach KNY (Ber. d. deutsch. Bot. Ges. Bd. XXII, 1904, p. 347) handelt es sich nur um radikale Wandstrukturen, nicht um Plasmodermen.

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Quincke, G., Doppelbrechung der Gallerte beim Aufquellen und Schrumpfen (Sitzber. d. k. preuß. Akad. d. Wiss. 1904, p. 258—265).

Der Verf. nimmt bei doppeltbrechenden Gallerten das Vorhandensein von unsichtbaren Schaumzellen an, deren Menge schwanken und daher auch einen von Stelle zu Stelle wechselnden Grad der Doppelbrechung innerhalb einer Gallertmasse erzeugen kann. Je nachdem ein Aufquellen oder Schrumpfen stattfindet, ist an der Außenseite der Gallerte der Charakter der Doppelbrechung positiv oder negativ, gegen das Innere zu kehrt sich das Vorzeichen um. Ähnlich den festen Gallerten verhalten sich auch klebrige Flüssigkeiten, doch ist bei letzteren die Doppelbrechung nur vorübergehend, die Relaxationszeit der dilatierten Flüssigkeit also meist nur kurz, während starre Gallerten festgewordene Schaumwände mit unendlich großer Relaxationszeit haben sollen. Die Richtung der größten Quellung und Schrumpfung fällt mit der Richtung der größten Dilatation der klebrigen Schaumwände oder der optischen Achse der Doppelbrechung an den verschiedenen Stellen einer flüssigen Gallerte zusammen.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Quincke, G., Über Ausbreitung und Extensionskraft (Ann. d. Phys. [4] XV, 1904, p. 55—60).

Der Verf. weist auf den Zusammenhang seiner Theorien über Tropfen- und Schaumbildung (vgl. d. vor. Ref.) mit seinen früheren Arbeiten über Kapillarität und Oberflächenspannung hin; sodann wendet sich derselbe besonders gegen eine Arbeit von G. van der Mensbrugghe, welcher bestritten hatte, daß durch periodische Ausbreitung von Seifenlösung an der Grenzfläche von Öl und Wasser die freiwillige Bildung von Ölemulsionen herbeigeführt werden könne. Quincke weist nach, daß die Extensionskraft, welche nach Mensbrugghes Meinung das Öl in kleine Tröpfchen zerreiße, nicht nachweisbar sei, da die Ausbreitung noch nicht während der chemischen Wirkung erfolge, sondern oft erst 30 Sekunden später.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Hlawatsch, C., Bestimmung der Doppelbrechung für verschiedene Farben an einigen Mineralien (Tschermaks mineral. u. petr. Mitt. Bd. XXIII, 1904, p. 415 bis 450 m. 3 Fig.).

Die Mineralien Åkermannit, Melilith, Gehlenit zeigen eine ähnliche Abhängigkeit der Interferenzfarben von der Dispersion wie der vom Verf. nach dieser Richtung bereits früher untersuchte Vesuvian. Teils an natürlichem Vorkommen, teils an Hüttenprodukten werden bei den drei erstgenannten Mineralien mittels Polarisationsmikroskopes und Babinetschen Kondensators die optischen Eigenschaften bestimmt, wobei sich zeigt, daß die zweigliederige Cauchysche Dispersionsformel diesen Erscheinungen der Dispersion der Doppelbrechung nicht genügt. *E. Sommerfeldt (Tübingen).*

Braun, F., Einige Beobachtungen, die sich auf künstliche Doppelbrechung beziehen (Ann. d. Phys. [4] XVI, 1905, p. 278—281 m. 1 Fig.).

Der Verf. beschreibt mehrere Verfahren, um durch Übereinanderschichten von Gelatine- oder Kollodiumhäutchen die optischen Erscheinungen ein- und zweiachsiger Kristalle nachzuahmen. Neu sind sind besonders die Beobachtungen, welche sich auf die Ausscheidung mikroskopischer Teilchen beim Einlegen von Gelatineplatten in Methylalkohol und auf die hierbei entstehende Doppelbrechung beziehen; dieselbe verschwindet nur zum Teil beim Wiedereintrocknen der Methylalkoholpräparate. *E. Sommerfeldt (Tübingen).*

Braun, F., Herstellung doppelt brechender Körper aus isotropen Bestandteilen (Physik. Zeitschr. V, 1904, p. 199—203).

Der Verf. weist zunächst theoretisch nach, daß ein Gemenge zweier einzeln isotroper Medien doppelt brechend sein kann, wenn die Korngröße des Gemenges so klein ist, daß es als homogen im Vergleich zur Wellenlänge aufgefaßt werden darf. Notwendig hierfür ist, daß die Dielektrizitätskonstanten der sich durchdringenden Medien verschieden sind. Für elektrische Wellen weist der Verf. auch experimentell diese Entstehungsursache der Doppelbrechung nach und vermutet daher, daß in vielen Fällen auch optische Doppelbrechungserscheinungen (z. B. bei Mischkristallen die sogenannten optischen Anomalien) aus dem gleichen Grunde entstanden sein können. *E. Sommerfeldt (Tübingen).*

Hinden, F., Neue Reaktionen zur Unterscheidung von Calcit und Dolomit (Verh. d. naturforsch. Ges. in Basel Bd. XV [2], 1904, p. 201—202).

Als mikrochemische Reaktion zur Unterscheidung von Kalkspat und Dolomit empfiehlt der Verf. die Behandlung mit 10prozentiger Eisenchloridlösung, wobei letzterer unverändert bleibt, ersterer hingegen sich rotbraun färbt. Auch die Lösungen von Bleiazetat, Kupfersulfat, Quecksilberchlorid werden hinsichtlich ihrer Einwirkung auf beide Mineralien geprüft.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Thugutt, St. J., Fritz Hindens „Neue Reaktionen zur Unterscheidung von Calcit und Dolomit" (Zentralbl. f. Min. Geol. Pal. 1905, p. 265—266).

Der Verf. weist darauf hin, daß bereits vor Hinden (vgl. d. vorige Ref.) sehr ähnliche und zum Teil noch vollständiger ausgearbeitete Unterscheidungsreaktionen zwischen Kalkspat und Dolomit von Lemberg beschrieben worden sind.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Lehmann, O., Flüssige Misch- und Schichtkristalle (Ann. d. Phys. [4] XVI, 1905, p. 160—165).

Es wurde ein neuer Repräsentant der kleinen Klasse organischer Körper aufgefunden, welche eine flüssige doppeltbrechende Modifikation aufweisen (vgl. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 104). Besonders interessante Eigenschaften zeigten die flüssig-kristallinen Mischungen dieses Körpers, des Anisaldazins, mit Methoxyzimtsäure, und zwar ließen sich bei geeignetem Mischungsverhältnis starke und mit farbenprächtigen Erscheinungen verbundene Schwankungen der Interferenzfarben mikroskopisch nachweisen, welche an die plötzlichen Umwandlungen polymorpher Modifikationen erinnerten. Jedoch scheinen nicht solche, sondern nur Schichtenbildungen wirklich stattzufinden, indem die beiden Substanzen in einem beschränkten Verhältnis miteinander mischbar sind und die sich übereinander lagernden dünnen Schichten ihrer chemischen Zusammensetzung nach den Endpunkten des Lückenintervalls entsprechen. Von Interesse sind auch die mikroskopischen Beobachtungen des Verf. über Ätzfiguren, welche sich an den flachgedrückten Tropfen erkennen lassen.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Richards, Th. W., a. Wells, R. Cl., The Nephelometer, an Instrument for Detecting and Estimating opalascent Precipitations (Amer. Chem. Journ. vol. XXXI, 1904, p. 235—243).

Um zu entscheiden, ob in einer Flüssigkeit feine Niederschläge suspendiert sind, bestimmt der Verf. die Intensität des reflektierten Anteils eines auffallenden Lichtstrahles, dessen Lichtstärke konstant bleibt. Dadurch wird zugleich ein quantitatives Maß für die Menge dieser, zum Teil submikroskopischen Teilchen gewonnen, da die Intensität des reflektierten Lichtes dieser Menge proportional sein muß. Die zu bestimmende Lösung und die Vergleichslösung müssen, wenn die quantitativen Angaben genau sein sollen, vollkommen gleichen Versuchsbedingungen unterworfen werden.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Donau, Über die Färbung der Boraxperle durch kolloïdal gelöste Edelmetalle (Monatshefte f. Chem. Bd. XXV, 1904, p. 913—918).

Der Verf. gibt einige Bestimmungsarten der Edelmetalle an, welche die bisherigen mikrochemischen Methoden an Empfindlichkeit wesentlich übertreffen und auf den Färbungen beruhen, welche kolloïdal verteilte Spuren dieser Metalle in der Boraxperle verursachen. Von besonderem Interesse sind die vergleichenden Angaben des Verf. über die Empfindlichkeit der verschiedenen Mikroreaktionen der Edelmetalle. Es lassen sich z. B. beim Gold mikrochemisch durch Zinnchlorür nur 2 spektraanalytisch noch 0,13 durch kolloïdale Färbung aber sogar 0,002 Mikromilligramme nachweisen.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Brauns, R., Mineralogie. 3. Aufl., Leipzig (J. G. Göschens Verlag) 1905; 134 pp., 132 Figg.

Die Entwicklung der Mineralogie während der letzten Jahre ist in der neuen Auflage des Büchleins nicht unberücksichtigt geblieben, sondern die Seitenzahl sowie auch die Textfiguren wurden im Vergleich zur zweiten Auflage vermehrt (diese um zwei, jene um vier). Die in der Kürze ihren Vorzug suchende Tendenz der „Göschen-Bändchen“ ist in zweckmäßiger Weise mit dem Bestreben, möglichste Vollständigkeit zu erreichen, vom Verf. vereinigt worden.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Behrens, H., Reaktionen für den mikrochemischen Nachweis organischer Basen (Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. XXXXIII, 1904, p. 333—355).

Im Anschluß an das dritte Heft seiner „Mikrochemischen Analyse“ teilt der Verf. zunächst Reaktionen zur Unterscheidung der einzelnen Gruppen organischer Basen mit, z. B. zur Unterscheidung von aliphatischen und aromatischen, sowie von primären, sekundären und tertiären Basen. Sodann wird auf einzelne Gruppen im speziellen eingegangen, und zwar auf das Anilin und seine Homologen, die Naphtylamine, auf die Amidophenole, die azetylierten Basen, auf die Benzylamine, die Diamine, Phenylhydrazine, Naphtylhydrazine, ferner auf eine Reihe von heterozyklischen Basen und Alkaloïden.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Vanino, S., u. Hartl, F., Über neue Bildungsweisen kolloïdaler Lösungen und das Verhalten derselben gegen Baryumsulfat (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXXVII, 1904, p. 3620—3623).

Die Verf. beschreiben eine Methode, um durch Schütteln mit Baryumsulfat zu entscheiden, ob die Färbung einer Flüssigkeit von einer gelösten oder von einer submikroskopisch verteilten kolloïdalen Substanz herrührt.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Bredig, G., u. Schukowsky, G. v., Prüfung der Natur der flüssigen Kristalle mittels elektrischer Kataphorese (Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. XXXVII, 1904, p. 3419—3425).

Um die Frage zu entscheiden, ob die flüssigen Kristalle submikroskopische Suspensionen enthalten, bedienten sich die Verf. einer elektrochemischen Methode. Durch Wanderung der suspendierten Teilchen im elektrischen Strome können kolloïdale Flüssigkeiten, Emulsionen u. dgl. meistens geklärt werden; es erwies sich aber in allen untersuchten Fällen (p-Azoxyanisol, Anisaldizin, Cholesterinpropionat, Kondensationsprodukte von Benzaldahyd mit Benzidin, ferner von Toluylaldehyd mit Benzidin) eine Trübungsabnahme nach dieser Methode als undurchführbar, so daß es auch hiernach naheliegt, die Körper als einheitliche Produkte aufzufassen.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Braun, F., Über metallische Gitterpolarisation, insbesondere ihre Anwendung zur Deutung mikroskopischer Präparate (Ann. d. Phys. [4], Bd. XVI, 1905, p. 238—278).

Braun, F., Der Hertzsche Gitterversuch im Gebiete der sichtbaren Strahlung (Sitzber. d. Akad. d. Wiss. Berlin, math.-physik. Kl., 1904, p. 154).

Zur Erklärung des Pleochroismus bei manchen Färbungen, Gläsern, isomorphen Mischkristallen und anderen „festen Lösungen“ hatte der Verf. bereits früher die Hypothese aufgestellt, daß die Partikeln des „gelösten“ Stoffes in ähnlicher Weise wie ein submikroskopisches Hertzsches Gitter in dem festen Lösungsmittel angeordnet seien. Bisher war diese Hypothese nur durch Beobachtungen im durchgehenden Licht geprüft, nunmehr jedoch geht der Verf. zu den besonders interessanten Folgerungen, welche sich für das reflektierte Licht aus seiner Annahme ergeben, über. Vorzugsweise wurden die nach einer Methode Ambronns hergestellten Goldfärbungen (z. B. bei Pinus silvestris, Nesselfasern u. a.) untersucht. Die Beschreibung der Versuchsanordnung enthält bemerkenswerte Einzelheiten über die Anwendung des neuen Zeissschen Vertikalilluminators für starke Vergrößerungen.

Es zeigte sich, daß die Gitterstäbe in den Gefäßwänden liegen und denselben parallel sind, daß ferner in den Gittern für alle Wellenlängen eine Absorption durch Joulesche Wärme stattfindet. Auch für Metallzerstäubungen wurde die Gitterstruktur festgestellt, indem z. B. bei zerstörtem Platin die Durchlaßfarbe gelblich oder grünlich-bläulich erschien, je nachdem die Lichtschwingungen quer oder parallel zu den Gitterstäbchen erfolgten. Auch hier bildeten — ebenso wie bei den imprägnierten Pflanzenfasern — die Erscheinungen im reflektierten Licht die Ergänzung zu denjenigen im durchfallenden Licht. *E. Sommerfeldt (Tübingen).*

Becke, F., Optische Untersuchungsmethoden (Denkschr. d. math.-naturw. Kl. d. k. Akad. d. Wiss., Wien, Bd. LXXV, 1904, p. 55—95).

Zur mikroskopischen Bestimmung der Mineralien hat der Verf. eine Reihe von Methoden ausgearbeitet, welche auf den Polarisationserscheinungen im parallelen und konvergenten Licht basieren, teilweise auch die Benutzung von Hilfskristallplatten (Gipsblättchen, Babinet-Kompensator etc.) bedingen. Dieselben werden in einer für

die Praxis sehr zweckmäßigen Art beschrieben und auch theoretisch auf eine neue Weise behandelt, nämlich unter Zuhilfenahme der vom Verf. unter der Bezeichnung „Skiodromen" eingeführten Kurven. Es leiten sich diese Kurven von den Kegeln ab, welche der Forderung genügen, daß die Lichtgeschwindigkeit für alle in ihrer Oberfläche gelegenen Richtungen gleich ist; die Skiodromenmethode läßt die Haupttypen der Isogyren besonders einfach erkennen. Auch die Methode des Verf., den Winkel der optischen Achsen mittels eines auf das Mikroskop aufgesetzten ABBEschen Zeichenapparats zu bestimmen, ist in erweiterter Form und mit neuen Berücksichtigungsverfahren der Fehlerquellen beschrieben.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Stark, M., Zusammenhang des Brechungsexponenten natürlicher Gläser mit ihrem Chemismus (TSCHERMAKS min. u. petr. Mitt., Bd. XXIII, 1904, p. 536—550).

Nach der mikroskopischen Methode F. BECKES bestimmt der Verf. den Brechungsexponenten bei einer großen Zahl von Gesteinsgläsern und stellt die Abhängigkeit desselben von dem Kieselsäuregehalt des Gesteines tabellarisch zusammen. Auch wurden die von dem GLADSTONschen Gesetz geforderten Werte der Brechungsexponenten mit den direkt beobachteten verglichen, wobei sich nur in einem Falle eine Ausnahme von diesem Gesetz ergab.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Bayon, P. G., Die histologischen Untersuchungsmethoden des Nervensystems. Würzburg (Stuber); VIII + 187 pp. 3·60 M.

Bolles Lee, A., The Microtomist's Vademecum. A Handbook of the methods of microscopic anatomy. 6th edit. London (J. a. A. Churchill) 1905; X + 538 pp.

Lo Forte, Giac., Il microscopio: Manuale pratico per i primi esercizi di microscopia. 6 Fig. Milano (Soc. edit. Sonzogno) 1904. 62 pp.

ten Siethoff, E. G. A., Handleiding bij het mikrophysisch onderzoek van urine. Rotterdam 1904; 308 pp.

---

2. Mikroskop und mikroskopische Apparate.

a. Neue Mikroskope.

Ladd's Student's Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 238).

Portable Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 239).

Reichert's Large Stand No. 1 A, fitted with Tip-up Stage-Clips (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 243; vgl. C. Reicherts Katalog No. 25, 1904, p. 17).

Reichert's Large Mineralogical Stand (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 247; vgl. C. Reicherts Katalog No. 25, 1904, p. 28).

Reichert's Microscope for determining hardness of substances (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 247; vgl. C. Reicherts Katalog No. 25, 1904, p. 36).

Reichert's New Mineralogical Stand (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 245; vgl. C. Reicherts Katalog No. 25, 1904, p. 30).

Reichert's New Large Stand A 1, with extra wide tube and new lateral micrometer-screw (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 241; vgl. C. Reicherts Katalog No. 25, 1904, p. 14).

Zeiss' New Laboratory Stand (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 240; vgl. Carl Zeiss' Spezialkatalog No. 10, 1904).

b. Objective.

H., Construction of aplanatic combinations of lenses with or without achromatism IV. (Engl. Mechanic 1905, vol. LXXX, p. 595).

Malassez, L., Sur la notation des objectifs microscopiques. 2 Fig. (Arch. d'Anat. microsc., t. VII, fasc. 2, p. 270—350).

Malassez, L., Sur la notation des objectifs microscopiques [3. Note] (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LVII, 1904, no. 35, p. 545).

Reichert's Objectives with Bourguet's Spring safety action (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 249; vgl. C. Reicherts Katalog No. 25, 1904, p. 5).

c. Beleuchtungsapparate.

(**Ross, H. C.**,) Electric warm-stage for use with the microscope combined with a Nernst lamp to illuminate the microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 250).

Troester, C., Über Dunkelfeldbeleuchtung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XIV, 1905, No. 15, 16, p. 511).

Baker's electric lamp for the microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 252).

Improved methods of working with the vertical illuminator (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 251).

Reichert's Swing-out Condensor and Iris Diaphragm (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 249; vgl. C. Reicherts Katalog No. 25, 1904).

d. Ultramikroskop.

Marpmann, Über ultramikroskopisches Sehen (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XI, 1905, H. 1, p. 1).

Raehlmann, E., Das Ultramikroskop, seine Technik und seine Anwendung zur Untersuchung von Blut- und Sekretbestandteilen (Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung Bd. II, 1905, p. 149).

Beschreibung und Handhabung des Apparates zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen, von Ernst Leitz, Optische Werkstätte in Wetzlar. 2 Fig. (Wochenschr. f. Brauerei, Jahrg. XXII, No. 7, p. 99—102).

Über die Grenzen der mikroskopischen Abbildung und die Sichtbarmachung „ultramikroskopischer" Teilchen (Zentralzeitg. f. Opt. u. Mech. Bd. XXV, 1904, No. 5, p. 51).

e. Verschiedenes.

Braun, F., Über metallische Gitterpolarisation insbesondere ihre Anwendung zur Deutung mikroskopischer Präparate (Ann. d. Phys. Bd. XVI, 1905, p. 238; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 2).

Braun, F., Der Hertzsche Gitterversuch im Gebiete der sichtbaren Strahlung (Sitzber. d. Akad. d. Wiss. Berlin, math.-physik. Kl., 1904, p. 154; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 306).

Crisp, Fr., Linnaeus and the use of the Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 253).

Fr. F. R. M. S., Amphipleura Lindheimeri (English Mechanic vol. LXXX, 1904, p. 455).

Gordon, J. W., The theory of highly magnified images (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 1).

Guilloz, Th., Sur la notation des objectifs et des oculaires de microscope. (Compt. rend. Soc. Biol., T. LVIII, 1905, No. 3, p. 139—141. [Réun. Biol. de Nancy]).

Guilloz, Th., Sur la relation qui doit exister entre le numéro de l'oculaire, le numéro de l'objectif et son ouverture numérique pour pouvoir bénéficier dans l'observation microscopique de tout le pouvoir séparateur de l'instrument (Compt. rend. Soc. Biol., T. LVIII, 1905, no. 15, p. 730—732).

Hunter, J., „Cross" formula (Proc. Scot. Micr. Soc. vol. IV, 1903 1904, p. 49).

(Kingsford, T. G.,) Method of constructing small glass tanks (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 253; vgl. Journ. Queckett Micr. Club 1904, vol. IX, p. 117—120).

(**Macé de Lepinay, J.**, u. **Buisson, H.**,) Über eine neue Methode zur Messung der Dicke und des Brechungsindex von Planparallelplatten (Zeitschr. f. Instrumentenk. Bd. XXV, 1905, p. 87; vgl. Ann. de Chim. et de Phys. t. II, 1904, p. 78).

Martin, K., Über Zonenfehlerkorrektion durch geeignete Glaswahl (Zeitschr. f. wiss. Photogr. Bd. II, 1904, p. 231).

Milne, J. R., New form of spectrophotometer (Proc. Roy. Soc. Edinburgh 1904, vol. XXV, p. 338—354).

Milne, J. R., New form of Juxtapositor to bring into accurate contact the edges of the two beams of light used in spectrophotometry with an application to Polarimetry (Proc. Roy. Soc. Edinburgh 1905, vol. XXV, p. 355—363).

(**Mostyn, C.**,) Resolution of Amphipleura pellucida (Knowledge vol. I, 1904, p. 307; vgl. Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 107).

Porter, A. B., On Abbe's diffraction theory of microscopic vision. Abstract of a paper presented at the Chicago meeting of the Physical Society, April 21, 1905 (Phys. Rev. vol. XX, 386—287, 1905).

Rheinberg, J. Ernst Abbe (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 156).

Schott, O., Über eine neue Ultraviolett-Quecksilberlampe. Uviollampe (Mitteil. a. d. Glaswerk Schott u. Gen., Jena, 10 pp.).

Winkelmann, A., Ernst Abbe, Rede bei der von der Universität Jena veranstalteten Gedächtnisfeier am 2. Mai 1905 gehalten, 23 pp. Jena (G. Fischer) 1905. 2 M.

Aperture table (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 107).

3. Mikrophotographie und Projektion.

Bellieni, Méthode pratique et simplifiée de microphotographie (C. R. Soc. Biol. t. LVIII, 1905, no. 7, p. 339—341).

Guilloz, Th., Détermination de la grandeur réelle des objets dans les photomicrographies (C. R. Soc. Biol. t. LVIII, 1905, no. 7, p. 343).

Köhler, A., A microscopic arrangement for ultra-violet light and investigations of organic substances, with its use (The Opt. Instrum. Monthly vol. I, no. 1, 1905, p. 4).

Mathet, L., Sur la reproduction des objets difficiles par la photomicrographie (Rev. d. Sc. photographiques t. I, 1904, p. 18).

Spitta, E. J., On suiting contrasts screens for the photography of bacteria (Photography vol. XVII, 1904, p. 577—579).

Zeiss' reflecting lantern, the epidiascope (The Opt. Instrum. Monthly vol. I, no. 1, 1905, p. 26).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Alfieri e Lacroix, Come si devono fare gli originali per le riproduzioni fotomeccaniche (Monit. Zool. Ital., Anno XVI, no. 4, p. 111—116).

Behring, E. v., Über ultramikroskopische Proteïnuntersuchungen (Beitr. z. exper. Ther., hrsg. v. E. v. Behring, 1905, H. 10, p. 22—29).

Berg, W., Weitere Beiträge zur Theorie der histologischen Fixation [Versuche an nukleïnsaurem Protamin] (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1904, H. 2, p. 298—357).

Best, Über mikroskopische Eisenreaktion (Verh. d. deutsch. Pathol. Ges. 8. Tagg., Breslau 1904, Ergänzungsh. z. Bd. XV d. Zentralbl. f. pathol. Anat. 1905, p. 147).

Davidsohn, C., Vorzüge der Kresylviolettfärbung (Verh. d. deutsch. Pathol. Ges. 8. Tagg., Breslau 1904, Ergänzungsh. z. Bd. XV d. Zentralbl. f. pathol. Anat. 1905, p. 150—152).

Dor, L., L'essence de moutarde comme liquide conservateur des pièces anatomiques (C. R. Soc. Biol. t. LVIII, 1905, no. 11, p. 479—481).

Driessen, L. F., Zur Glykogenfärbung (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 4, p. 129).

Fischler, F., Über die Unterscheidung von Neutralfetten, Fettsäuren und Seifen im Gewebe (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XV, 1904, No. 22, p. 913—917; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 262).

Gerlach, L., Die anatomisch-histologische Technik des 19. Jahrhunderts und ihre Bedeutung für die Morphologie. Erlangen 1904. 38 pp. 8°. M. 1·50.

Grigorjew, A., Über Konservierung von Organen und Organinhalt zu nachträglicher mikroskopischer und chemischer Untersuchung (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Medizin, F. 3, Bd. XXIX, 1905, H. 1, p. 79).

Lenhossék, M. v., Ramón y Cajals neue Fibrillenmethode (Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXIII, 1904, No. 13, p. 593—609; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 264).

Liepmann, Konservierung von pathologisch-anatomischen Präparaten (Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. LIV, 1905, H. 1, p. 158).

Lugaro, E., Un metodo di colorazione delle neurofibrille mediante l'argento colloidale (Monit. Zool. Ital., Anno XV, no. 11, p. 350—356).

Lugaro, E., Sui metodo di demostrazione delle neurofibrille (Ann. di nevrologia, Anno XVI, 1904, fasc. 5, p. 495—496 [12. Congresso d. soc. freniatr. Ital. in Genova 1904]).

Miodowski, F., Neueste Vorschläge zur histologischen Technik (Internat. Zentralbl. f. Ohrenheilk. Bd. III, 1905, H. 4, p. 133).

Osborn, Fr. A., A simple electrical thermostat (Journ. Phys. Chem. Bd. IX, 1905, p. 297—298).

Rosenau, M. J., Laboratory course in pathology and bacteriology [revised edition] (Treasury Departm. Hyg. Labor. Washington, Bull. no. 8, 1904 79 pp.).

Scholz, Fr., Über Aceton-Celloïdin-Schnelleinbettung (Deutsch. med. Wochenschr. Bd. XXXI, 1905, No. 11, p. 419).

Strauch, Eine Methode farbiger Konservierung frischer Leichenteile für Zwecke der somatischen Anthropologie (Zeitschr. f. Ethnologie Jahrg. XXXVI, 1904, H. 5, p. 671).

Thilo, O., Vorrichtung zum Durchlüften des Wassers von Aquarien (Korrespondenzbl. d. Naturf. Ver. zu Riga, Jahrg. XLVII, 1904, p. 5).

Beiträge zur praktischen Mikroskopie. 1. Neuere Präparationsmethoden (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XI, 1905, H. 3, p. 57).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Depdolla, Ph., Untersuchungen über die Spermatogenese von Lumbricus terrestris (Zool. Anz. Bd. XXVIII, 1905, p. 545—557; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 265).

Hirschler, J., Weitere Regenerationsstudien an Lepidopterenpuppen [Regeneration des vorderen Körperendes] (Anat. Anz. Bd. XXV, 1904, No. 18, 19, p. 417—435 m. 5 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 265).

Jakimoff, W. L., Zur Biologie der Trypanosomen der Nagana und des Mal de Caderas (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1904, H. 5, p. 668—678).

Marino, F., Coloration des protozoaires et observations sur la neutrophile de leur noyau (Ann. de l'Inst. Pasteur, Année VIII, 1904, no. 12, p. 761—766).

Smedley, R. D., The cultivation of Trypanosomata (Journ. of Hygiene vol. V, 1905, no. 1, p. 24—47).

b. Wirbeltiere.

Arnold, J., Über Bau und Sekretion der Drüsen der Froschhaut: zugleich ein Beitrag zur Plasmosomen-Granulalehre (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1905, p. 649—665 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 286).

Bab, H., Die Colostrumbildung als physiologisches Analogon zu Entzündungsvorgängen. Gleichzeitig ein Beitrag zur Lehre von den Leukocyten und deren Granulationen. Mit historischen Darlegungen. Berlin (A. Hirschwald) 1904; 97 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 272.)

Backmund, K., Entwicklung der Haare und Schweißdrüsen der Katze (Anat. Hefte, H. 79, 80 [Bd. XXVI, H. 2, 3], p. 317—383 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 285).

Bunting, P. L., The Histology of Lymphatic Glands: the general Structure, the Reticulum and the Germ Centres (Journ. of Anat. a. Physiol. vol. XXXIX, 1904, p. 55—68 w. 5 pltes.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 287).

Cameron, J., The Development of the Retina in Amphibia, an Embryological and Cytological Study (Journ. of Anat. a. Phys. London vol. XXXIX, 1905, p. 135—152 w. 2 pltes.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 290).

Cavalié, M., Les ramifications nerveuses dans l'organe électrique de la torpille (Torpedo Galvani) [Dispositif fibrillaire dans les gaines des fibres nerveuses et autour d'elles] (Bibliogr. anat. t. XIII, 1904, fasc. 4, p. 214—220 av. 5 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 278).

Cesa-Bianchi, D., Contributo alla conoscenza dell'istogenesi delle cisti semplici dell'ovaia (Arch. Sc. med. vol. XXIX, 1905, p. 1).

Delfino, E., Macroglossia congenita neurofibromatosa (Arch. Sc. med. vol. XXIX, 1905, p. 34).

Donati, M., Ipernefroma maligno del fegato (Arch. Sc. med. vol. XXIX, 1905, p. 154).

Fichera, G., Über die Verteilung des Glykogens in verschiedenen Arten experimenteller Glykosurie (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVI, 1904, H. 2, p. 273—339 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 288).

Glas, E., Über intraepitheliale Drüsen, Cysten und Leukocytenhäufchen der menschlichen Nasenschleimhaut (Arch. f. Laryngol. u. Rhinol. Bd. XVI, 1904, H. 2, p. 236—264 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 286).

Goldberg, B., Über die Müllersche Modifikation der Donnéschen Eiterprobe (Zentralbl. f. inn. Med. Jahrg. XXVI, 1905, No. 20, p. 497).

Grabower, Die Verteilung und Zahl der Nervenfasern in den Kehlkopfmuskeln und die Hinfälligkeit des Erweiterers der Stimmritze (Arch. f. Laryng. u. Rhinol. Bd. XVI, 1904, H. 2, p. 189—207 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 279).

Helber, E., Über die Entstehung der Blutplättchen und ihre Beziehungen zu den Spindelzellen (Deutsches Arch. Klin. Med. Bd. LXXXII, 1904, H. 1, 2, p. 41—59 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 268).

Illing, G., Vergleichende makroskopische und mikroskopische Untersuchungen über die submaxillaren Speicheldrüsen der Haussäugetiere (Anat. Hefte, H. 70, 80 [Bd. XXVI, H. 2, 3], 1904, p. 389—526 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 284).

Imhof, G., Anatomie und Entwicklungsgeschichte des Lumbalmarkes bei den Vögeln (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV, 1905, p. 498—610 m. 30 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p 283).

Joris, H., Histogenèse du Neurone (Bull. Acad. R. Méd. Belgique, 25 juin 1904, 44 pp. av. 5 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 279).

Koiransky, Eugenie, Über eigentümliche Gebilde in den Leberzellen der Amphibien (Anat. Anz. Bd. XXV, 1904, No. 18, 19, p. 435—456 m. 6 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 288).

Kopsch, F., Über den Kern der Thrombocyten und über einige Methoden zur Einführung in das Studium der Säugetier-Thrombocyten (Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXI, 1904, H. 4—8, p. 344—353; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 268).

Kozowsky, A. D., Zur Färbungsmethodik der Nervenfasern des Zentralnervensystems (Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXIII, 1904, No. 22, p. 1041—1042; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 277).

Meves, F., Zur Wirkung von Säure auf die roten Blutkörperchen der Amphibien (Anat. Anz. Bd. XXV, 1904, No. 9, 10, p. 240—245; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 291).

Meyer, P., Ein Verfahren zur Erzielung haltbarer Amyloïdpräparate (Virchows Arch. f. pathol. Anat. Bd. CLXXX [Folge 17, Bd. X], H. 2, p. 359—361).

Modica, O., Nuovo metodo di fissazione di sangue (Arch. farmacol. speriment. e Sc. affini, Anno 3, vol. III, 1904, fasc. 11).

Palleske, Eine neue Methode des Blutnachweises? (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med., Folge 3, Bd. XXIX, 1905, H. 2, p. 331—338).

Pighini, G., Sulla struttura dei globuli rossi (Arch. Sc. med. vol. XXIX, 1905, p. 49).

Preisich, K., u. **Heim, P.**, Über die Abstammung der Blutplättchen (Virchows Arch. Bd. CLXXVIII, 1904, H. 1, p. 43—60 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 266).

Ramón y Cajal, S., La méthode à l'argent réduit associée à la méthode embryonnaire pour l'étude des noyaux moteurs et sensitifs (Bibliogr. Anat. t. XIII, 1904, fasc. 5, p. 242—275 c. 12 figg. Dasselbe in Trab. Labor. Investig. Biol. Univ. Madrid t. III, 1904, fasc. 2, 3, p. 65—96 av. 12 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 273).

Ravenna, E., Sui cosidetti tumori endoteliali. Memoria seconda: Gli emoangioendoteliomi del fegato. [Osservazioni anatomo-patologiche.] (Arch. Sc. med. vol. XXIX, 1905, p. 124).

Reichert, C., Über das Vorkommen kleinster Körperchen im frischen Menschenblut (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XI, 1905, H. 12, p. 309).

Rossi, E., L'intima struttura delle cellule nervose umane (Le Névraxe vol. VI, fasc. 3, 1904, p. 331—349 av. 16 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 273).

Sala, G., Beitrag zum Studium der feineren Struktur der Netzhaut (Anat. Anz. Bd. XXV, 1904, No. 9, 10, p. 246—249 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 291).

Schridde, H., Weitere Untersuchungen über die Körnelungen der Plasmazellen (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 11, p. 433).

Siethoff, E. G. A. ten, Het urine onderzoek bij gerechtelijke lijkschouwingen (Nederl. Tijdschr. v. Geneesk., II, 1904, p. 798).

Simon et Spillmann, L., Application de la photographie à la numération des éléments figurés du sang. (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LVII, 1904, no. 37, p. 659).

c. Bakterien.

Asahi, K., Beitrag zur Untersuchung auf Hyphomyceten (Prager med. Wochenschr. Jahrg. XXX, 1905, No. 12, p. 153—154 m. 1 Fig.).

Austregesilo, A., Über die Diazoreaktion bei den tropischen Krankheiten (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene Bd. IX, 1905, No. 5, p. 226).

Berner, O., En anaërob platekulturskaal (Norsk Mag. for Lägevid. 1904, p. 823).

Biedert, Über die BIEDERTsche (MÜHLHÄUSER-CZAPLEWSKIsche) Methode zum Auffinden vereinzelter Tuberkelbazillen (Hygien. Rundsch. Jahrg. XV, 1905, No. 5, p. 241).

Blecher, C., Ein Apparat zum Lösen und Filtrieren großer Quantitäten Gelatine, Agar-Agar etc. (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XIV, 1905, No. 12, 13, p. 415—416 m. 1 Fig.).

Blumenthal, J. M. u. Lipskerow, M., Vergleichende Bewertung der differentiellen Methoden zur Färbung des Diphtheriebazillus (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVIII, 1905, H. 3, p. 359).

Borden, J. H., The WIDAL Test for practicing physicians (Proc. New York pathol. Soc. vol. IV, 1904, p. 405).

Doerr, R., Beobachtungen über bazilläre Dysenterie (Zentralbl. f. Bakteriol. 1. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 4, p. 420; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 244).

Dreuw, Zur Züchtung anaërober Bakterien (Verhandl. u. Ber. d. 5. internat. Dermatol. Kongr. Berlin 1904).

Dschunkowsky, E., u. Luhs, S., Apparat zum sterilen Blutentnehmen zwecks Untersuchung (Zentralbl. f. Bakteriol. 1. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 3, p. 367; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 295).

Dworetzky, A., Erfahrungen mit der SPENGLERschen Formalinmethode zur Reinzüchtung von Tuberkelbazillen aus Bakteriengemischen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1904, H. 4, p. 626—631).

Gaethgens, W., Der Bacillus jasmino-cyaneus und der Bacillus flavo-aromaticus, zwei neue Farbstoff bildende Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. 1. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 2, p. 129; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 292.)

Galli-Valerio, Br., Etudes bactériologiques. Corynebacterium vaccinae. Bacterium diphterium avium. — Bacterium candidum — (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXVIII, 1905, No. 4, p. 465).

Gordon, Mervyn H., Einige Angaben zur Differenzierung von Streptokokken (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1904, H. 5, p. 728).

Gossner, Zur bakteriologischen Diagnose (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. LII, 1905, No. 8, p. 347).

Gradwohl, R. B. H., Importance de l'examen bactériologique pratique sur les cadavres (Ann. de l'Inst. PASTEUR Année VIII, 1904, no. 12, p. 767).

Guignard, Alb., Beitrag zum mikroskopischen Nachweis der Tuberkelbazillen im Sputum u. Urin. Diss. (21 S.) 8⁰. Aarau (H. R. Sauerländer u. Co.) 1905. M. —·70

Heller, O., Die ROTHBERGERsche Neutralrotreaktion auf Gelatine bei 37⁰ (Zentralbl. f. Bakteriol. 1. Abt., Orig. Bd. XXXVIII, H. 1; vgl. diese Zeitschr. XXII, 1905, p. 292).

Hewlett, R. T., Detection of Bacillus Enteritidis sporogenes in Water (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 110; vgl. Trans. Pathol. Soc. vol. LV, 1904, p. 123).

Hill, H. W., Preparation of broth cultures for flagella staining (Journ. of med. research. vol. XIII, 1904, no. 1, p. 97—98).

Kaufmann, Joh., C. HEMMIGSENs Thermoregulator beim Vorwärmen und Pasteurisieren (Milchwirtsch. Zentralbl. Jahrg. I. 1905, H. 1, p. 24—26).

Klein, E., The Horace Dobell Lecture on the life-history of saprophytic and parasitic bacteria an their mutual relation (Lancet 1904, vol. II, p. 1477—1486).

Kraft, E., Winke für die Ausführung chemisch-bakteriologischer Arbeiten auf dem Gebiete der Harn-, Sputum-, Fäces- etc. Untersuchungen (Berlin, Selbstverlag d. deutsch. Apotheker-Vereins 1905).

Kral, F., Zur Differenzierung und objektiven Darstellung des Zellinhaltes von Hefe- und Spaltpilzen (Verh. d. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte, 74. Vers. zu Karlsbad, II. Teil, 2. Hälfte [erschienen 1903], p. 621—622; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 296).

Kral, F., Über einfache expeditive Geißelfärbungsmethoden (Verh. d. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte, 74. Vers. zu Karlsbad, II. Teil, 2. Hälfte [erschienen 1903], p. 621; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 295).

Marschall, F., Die Bedeutung des ENDOschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVIII, 1905, No. 3, p. 347—359).

Miquel et **Cambier**, Traité de bactériologie pure et appliquée à la médecine et l'hygiène. 8⁰. 224 Figg. Paris (Masson et Co.) 1905. 22·50 M.

Monti, E., Osservazioni e critiche sperimentali sul metodo di v. DRIGALSKI-CONRADI per le ricerche dei bacilli del tifo nelle feci (Arch. Sc. med. vol. XXIX, 1905, p. 70).

Rullmann, W., Über das Verhalten des im Erdboden eingesäten Typhusbazillus (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVIII, 1905, H. 4; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 292).

Russo, M., La bleumetilene-reazione, suo valore clinico (Riforma med. Anno XXI, 1905, no. 19, p. 507).

Scagliosi, G., Su un nuovo metodo di colorazione elettiva delle spore (Rif. med. Anno XX, 1904, no. 49, p. 1349—1351).

Schaudinn, Fr., u. Hoffmann, E., Mitteilungen über Spirochätenbefunde bei Syphilis (Sitzber. d. Berlin. med. Ges., 17. Mai 1905; vgl. Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Ref. Bd. XXXVI, 1905, No. 24, 25, p. 749).

Schaudinn, Fr., u. Hoffmann, E., Über Spirochätenbefunde im Lymphdrüsensaft Syphilitischer (Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 18, p. 759).

Sellards, A. W., Some researches on anaërobic cultures with phosphorous (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1904, H. 4, p. 632—637 m. 2 Figg.).

Serkowski, St., Ein neuer Nivellierapparat und dessen Anwendung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1904, No. 4, p. 637—640).

Spitta, E. J., On suiting contrast screens for the photography of bacteria (Photography vol. XVII, 1904, p. 577).

Stroß, O., Über das Wachstum der Gonokokken auf serumhaltigen Nährböden (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVIII, 1905. H. 4, p. 491; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 294).

Tarazzi, G., Über ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVIII, 1905, H. 5, p. 619—624).

Vetter, W., Eine Methode, um Tuberkelbazillen in pleuralen Ergüssen aufzufinden (Zentralbl. f. inn. Med. Jahrg. XXVI, 1905, No. 18, p. 449—455).

---

d. Botanisches.

Albanese, N., Ein neuer Fall von Endotropismus des Pollenschlauches und abnormer Embryosackentwicklung bei Sibbaldia procumbens L. (Sitzber. d. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXIII, 1904, Abt. 1, p. 653; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXIII, 1905, p. 299).

Björkenheim, C. G., Beiträge zur Kenntnis des Pilzes in den Wurzelanschwellungen von Alnus incana (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV, 1904, p. 128; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 300).

Claussen, P., Zur Entwicklung der Ascomyceten. Boudiera (Botan. Zeitg. Bd. LXIII, 1905, Abt. 1, H. 1, 2, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 297).

Ernst, A., Zur Kenntnis des Zellinhaltes von Derbesia (Flora Bd. XCIII, 1904, p. 514; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 299).

(J. Q. T.,) Staining and preserving algae (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 115; vgl. Knowledge vol. I, 1904, p. 305).

Michniewicz, H. R., Über Plasmodesmen in den Kotyledonen von Lupinus-Arten und ihre Beziehung zum interzellularen Plasma (Österr. Botan. Zeitschr. Bd. LIV, 1904, p. 165; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 300).

Senft, E., Über den mikrochemischen Zuckernachweis durch essigsaures Phenylhydrazin (Sitzber. d. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXII, 1904, Abt. 1, p. 3; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 298).

Treadle, Mounting Volvox (English Mechanic vol. LXXX, 1904, p. 300).

Villagio, Mounting Algae (English Mechanic vol. LXXX, 1904, p. 345).

Woycicki, Z., Einige neue Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von Basidiobolus Ranarum (Flora Bd. XCIII, 1904, p. 87; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 300).

Zacharias, E., Über die Cyanophyceen (Mitt. a. d. botan. Staatsinstituten in Hamburg, 3. Beih. z. Jahrb. d. Hamburg. wissenschaftl. Anstalten zu Hamburg, 1904, p. 47; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 297).

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Andrews, T., Microscopical observations on Naval accidents (Iron and Steel Magaz., vol. IX, 1905, p. 163—168).

Becke, F., Optische Untersuchungsmethoden (Denkschr. d. math.-naturw. Kl. d. k. Akad. d. Wiss., Wien, Bd. LXXV, 1904, p. 55; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 306).

Behrens, H., Reaktionen für den mikrochemischen Nachweis organischer Basen (Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. XXXXIII, 1904, p. 333—355; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 305).

Braun, F., Einige Beobachtungen, die sich auf künstliche Doppelbrechung beziehen (Ann. d. Phys. [4] Bd. XVI, 1905, p. 278—281 m. 1 Fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 302).

Braun, F., Herstellung doppelt brechender Körper aus isotropen Bestandteilen (Physik. Zeitschr. V, 1904, p. 199—203; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 302).

Braun, F., Über metallische Gitterpolarisation, insbesondere ihre Anwendung zur Deutung mikroskopischer Präparate (Ann. d. Phys. [4], Bd. XVI, 1905, p. 238—278; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 306.

Braun, F., Der Hertzsche Gitterversuch im Gebiete der sichtbaren Strahlung (Sitzber. d. Akad. d. Wiss. Berlin, math.-physik. Kl., 1904, p. 154; vgl. diese Zeitschrift Bd. XXII, 1905, p. 306.

Brauns, R., Mineralogie. 3. Aufl. Leipzig (J. G. Göschens Verlag) 1905; 134 pp. mit 132 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 304.

Bredig, G., u. **Schukowsky, G. v.**, Prüfung der Natur der flüssigen Kristalle mittels elektrischer Kataphorese (Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. XXXVII, 1004, p, 3419—3425; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 305).

Campbell, W., On the microstructure of metalls and alloys (Electrochem. Ind. vol. II, 1905, p. 49).

Donau, Über die Färbung der Boraxperle durch kolloïdal gelöste Edelmetalle (Monatshefte f. Chem. Bd. XXV, 1904, p. 913—918; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 304).

Gledhill, J. M., Development and use of high-speed tool steel (Iron and Steel Magaz. vol. IX, 1905, p. 19—44).

Hinden, F., Neue Reaktionen zur Unterscheidung von Calcit und Dolomit (Verh. d. naturforsch. Ges. in Basel Bd. XV [2], 1904, p. 201—202; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 303).

Hlawatsch, C., Bestimmung der Doppelbrechung für verschiedene Farben an einigen Mineralien (Tschermaks mineral. u. petr. Mitt. Bd. XXIII, 1904, p. 415—450 m. 3 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 302).

Lehmann, O., Flüssige Misch- und Schichtkristalle (Ann. d. Phys. [4] Bd. XVI, 1905, p. 160—165; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 303).

Quincke, G., Über Ausbreitung und Extensionskraft (Ann. d. Phys. [4] Bd. XV, 1904, p. 55—60; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 301).

Quincke, G., Doppelbrechung der Gallerte beim Aufquellen und Schrumpfen (Sitzber. d. k. preuß. Akad. d. Wiss. 1904, p. 258—265; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 301).

Richards, Th. W., a. **Wells, R. Cl.**, The Nephelometer, an Instrument for Detecting and Estimating opalascent Precipitations (Amer. Chem. Journ. vol. XXXI, 1904, p. 235—243; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 304).

(**Rose, T. K.**,) Certain properties of alloys of Silver and Cadmium (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 119; vgl. Proc. Roy. Soc. vol. CXXIV, 1904, p. 218).

Seaton, A. E., a. **Jude, A.**, Impact tests on the wrought steels of commerce (Proceed. Inst. Mechan. Engineers 1904, Nov. 18).

Stark, M., Zusammenhang des Brechungsexponenten natürlicher Gläser mit ihrem Chemismus (Tschermaks min. u. petr. Mitt. Bd. XXIII, 1904, p. 536; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 307).

(**Stead, J. E.**,) Sulphides and silicates of Manganese in Steel (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 2, p. 265; vgl. Iron and Steel Magaz. vol. IX, 1905, p. 105—113).

Thugutt, St. J., Fritz Hindens „Neue Reaktionen zur Unterscheidung von Calcit und Dolomit" (Zentralbl. f. Min. Geol. Pal. 1905, p. 265—266; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 303).

(**Turner**,) Hardness of metals (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 1, p. 118; vgl. English Mechanic vol. LXXX, 1904, p. 404).

Vanino, S., u. **Hartl, F.**, Über neue Bildungsweisen kolloïdaler Lösungen und das Verhalten derselben gegen Baryumsulfat (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXXVII, 1904, p. 3620—3623; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 305).

Band XXII. Heft 3.

Die Trichloressigsäure als Fixierungsmittel.

Von

Prof. Dr. Martin Heidenhain

in Tübingen.

Die Trichloressigsäure verwende ich schon seit mehr als 10 Jahren als Fixierungsmittel. Anfangs habe ich sie nur wenig benutzt, später mehr und mehr; jetzt, nachdem ich die Bedingungen der Verwendbarkeit besser kennen gelernt habe, möchte ich sie nicht mehr missen und verwerte sie besonders zu Kurszwecken in ausgedehnter Weise.

Den Hinweis auf die Trichloressigsäure verdanke ich noch meinem Vater, welcher zwar selber das Mittel für die Zwecke der Histologie nicht benutzt hat, indessen mir auf eine spezielle Anfrage hin diese Säure als ein besonders stark und sicher eiweißfällendes Reagens bezeichnete. Inzwischen haben auch andere Autoren die Trichloressigsäure oder analoge Verbindungen (Trichlormilchsäure Holmgren) zu Fixierungszwecken verwendet, indessen geschah dies nur selten, und man scheint von den Resultaten meist nicht befriedigt gewesen zu sein. Aus diesem Grunde ist es mein Wunsch, den Gegenstand einmal zur Sprache zu bringen.

Ich verwende diese Säure in 5- bis 10prozentiger Lösung; indessen dürfte die 5prozentige Lösung für alle gewöhnlichen Fälle ausreichen. Die Eigentümlichkeiten und Vorzüge des Mittels sind die folgenden.

1) Die Trichloressigsäure fällt alle Eiweiße, auch die Mucine; meiner Beobachtung nach konserviert sie aber, — wie übrigens die sämtlichen andern Fixierungsmittel auch — die serösen Drüsengranula nur längs der Oberfläche der Stücke.

2) Das Reagens dringt sehr rasch ein. Da es nicht wie viele andere stark eiweißfällende Lösungen an der Oberfläche der Stücke eine dichte, harte, schwer durchgängige Kruste produziert, wie dies z. B. bei der Pikrinsäure und der Chromsäure der Fall ist, so werden auch große Stücke binnen kurzem vollständig durchfixiert.

3) Die Stücke gewinnen eine gleichmäßige Konsistenz und betten sich leicht ein. Die Durchdringung mit Paraffin wird (besonders nach Schwefelkohlenstoffdurchtränkung) eine so vollkommene, daß Paraffin und Gewebe meist eine vollkommen gleichartige, durchsichtige Masse bilden. Dies trifft auch für solche Objekte zu, welche dafür bekannt sind, daß sie sich verhältnismäßig schwer einbetten und schneiden, wie Speicheldrüsen, Pankreas, Muskulatur, Haut.

4) Da Schrumpfungen überhaupt nicht, eher geringe Quellungen statthaben (etwa wie bei Pikrinschwefelsäure), wird die Größe, Form, Anordnung, gegenseitige Orientierung der Zellen vorzüglich gut erhalten. Schöne, typische Bilder gewinnt man besonders von epithelialen Organen (Drüsen, Magen, Darm, Nebenniere).

5) Es hinterbleibt eine ausgezeichnete, und zwar nicht modifizierte Färbbarkeit (etwa wie bei Alkohol, Sublimat) für Karmin, Eisenhämatoxylin und Anilinfarben. Bei Delafieldschem Hämatoxylin muß man gewöhnlich aus sehr verdünnten Lösungen längere Zeit färben, um eine schöne Kerntinktion zu erhalten.

6) Die feinsten Details im Kern und Plasma erhält die Trichloressigsäure nicht. Dagegen reicht sie aus um Granula, Zentralkörper, Spindeln, Chromosomen, Schlußleisten, Sekretkapillaren, die Muskelstruktur etc. genügend zu konservieren. Dies Resultat ist sehr beachtenswert, da, wie gesagt, Schrumpfungen gänzlich fehlen.

Soweit wäre nun alles ganz hübsch und gut, indessen müssen wir leider bei Trichloressigsäure-Fixierung einen großen Übelstand mit in Kauf nehmen, nämlich die Neigung des Bindegewebs in Wasser und wässerigen Lösungen zu quellen. Dieser Umstand ist den Histologen bereits bekannt und, er ist es offenbar, der einer ausgedehnten Anwendung des Mittels bisher im Wege stand.

Ich bin nun aber im wesentlichen über diese Klippe dadurch hinweggekommen, daß ich die Stücke aus der Fixierungsflüssigkeit sofort in absoluten Alkohol übertrage und mit diesem die Säure extrahiere. In der ersten Woche wechsele ich den Alkohol häufig; weiterhin lasse ich die Stücke noch einige Monate (eventuell dauernd) in absolutem Alkohol liegen und wechsele denselben noch einige

Male in größeren Zwischenräumen. Nach dieser Behandlung ist die Neigung der Stücke, bezw. des Bindegewebs, zu quellen, in hohem Grade verringert. Alsdann bette ich ein, schneide und klebe die Schnitte auf (in diesem Fall mit Eiweißlösung), denn die auf einer Unterlage fixierten Schnitte verhalten sich meiner Erfahrung nach gegenüber Quellung und Schrumpfung bewirkenden Mitteln weniger empfindlich.

Es ist also dringend nötig die Stücke aus der Säure sofort in absoluten Alkohol zu übertragen, letzteren oft zu wechseln und diese Behandlung einige Zeit fortzusetzen.

In den fertigen, gefärbten Präparaten präsentieren sich alle derben Lagen fibrillären Bindegewebs unter den Bilde einer mehr oder weniger glasigen Masse, innerhalb deren die Bindegewebszellen in sehr deutlichem Grade hervortreten. Mithin habe ich anfangs geglaubt, daß es sich um eine Zerstörung des Bindegewebs handele. Späterhin bin ich indessen zu der Überzeugung gekommen, daß dies keineswegs der Fall ist. Vielmehr sehen wir in diesen Präparaten das Bindegewebe sozusagen nur von einer andern Seite her als dies gewöhnlich der Fall zu sein pflegt. Denn gewöhnlich ist das Bindegewebe in unseren Präparaten etwas geschrumpft, also auch entstellt, jedoch in anderem Grade als bei den Trichloressigsäurepräparaten. Wendet man auf ein solches bindegewebsfärbende Mittel an, so zeigt sich, daß die Bindegewebsbündel keineswegs verquollen und zerstört, sondern samt ihrer fibrillären Struktur recht schön erhalten sind; ich besitze z. B. mit Chromotrop 2 R gefärbte Querschnitte einer Zunge vom Hunde, in deren Schleimhaut durchgehends prächtige, lockige, fibrilläre Bindegewebsbündel sichtbar sind. Es dürfte also nur darauf ankommen, aus jener scheinbar glasigen Masse, in welche das fibrilläre Bindegewebe nach Trichloressigsäure-Behandlung übergeht, die Struktur wieder herauszuarbeiten. Diese Aufgabe dürfte allerdings nicht sehr dankbar sein. Da nun aber gerade im Unterricht bei denjenigen Organen, für welche sich die Trichloressigsäure im besonderen Grade eignet, wie Drüsen, Magen, Darm, Muskeln, das fibrilläre Bindegewebe eine geringe Rolle spielt, so meine ich, daß man sich der zweifellosen Vorzüge des Mittels erfreuen und, wenn eine Darstellung der Bindegewebsstruktur gewünscht wird, anders fixieren soll.

Übrigens scheint dies alles nur vom fibrillären Bindegewebe zu gelten, denn an jenen membranösen Häutchen, welche in vielen Organen (Muskeln, Drüsen) die feineren Teile des Bindegewebsgerüstes

ausmachen, habe ich einstweilen keine Veränderung gewahren können. Daher erscheinen Organe, welche wenig fibrilläres Bindegewebe enthalten (Herzmuskel, Pancreas etc.), kaum verändert.

Schließlich will ich die Frage, ob man mit Trichloressigsäure fixieren soll oder nicht, noch von einer andern Seite her beleuchten. Meines Erachtens nach ist nämlich unser neues Mittel ein beachtenswerter Konkurrent der beliebten, aber wenig dankbaren Müllerschen Flüssigkeit. Letztere wird aus Rücksichten der Bequemlichkeit sehr viel gebraucht; allein die Resultate der Konservierung sind bei diesem Mittel mäßig und die Haltbarkeit der auf diesem Wege gewonnenen Präparate ist geradezu schlecht. Wir haben in Würzburg sehr viel mit Müllerscher Flüssigkeit gearbeitet und unsere Schnitte möglichst sorgfältig eingelegt; jetzt, 10 bis 15 Jahre später ist der größte Teil der Präparate wegen des Zurückgehens der Farben unbrauchbar geworden, ja selbst die solidesten Carminpräparate sind abgeflaut. Aus diesem Grunde wende ich die Müllersche Flüssigkeit, falls es nicht dringend geboten ist (Zentralnervensystem!), nicht mehr an. Wie ich vermute, beruht das Verbleichen der Präparate aus Müllerscher Flüssigkeit auf dem Gehalt an Chromoxyden, welche die Rolle von Sauerstoffüberträgern zu spielen scheinen, so daß die Farben wegoxydiert werden.

Es wäre also sehr zweckmäßig, wenn wir einige Mittel hätten, welche sich an die Stelle der Müllerschen Flüssigkeit setzen lassen. Hierzu gehört nun die Trichloressigsäure. Denn man kann mit ihrer Hilfe verhältnismäßig große Stücke durchfixieren, einbetten und schneiden. Die Präparate sind ferner leicht und schön färbbar und, soweit ich weiß, vorzüglich haltbar.

[Eingegangen am 16. September 1905.]

Über die Färbung von Knochenknorpel zu Kurszwecken.

Von

Prof. Dr. Martin Heidenhain
in Tübingen.

In den mikroskopischen Kursen legen wir unseren Schülern einerseits Knochenschliffe, anderseits ungefärbte und gefärbte Schnitte von „Knochenknorpel" vor. Es ist richtig, daß die gefärbten Schnitte entbehrt werden können, da jeder einigermaßen durchsichtige Rasiermesserschnitt durch entkalkten Knochen fast die ganze Struktur zum Vorschein bringt; nichtsdestoweniger ist es wünschenswert zum Zwecke wiederholter Untersuchungen und für die die Vorlesung begleitenden Demonstrationen über gut gefärbte Schnitte zu verfügen. Aus diesem Grunde habe ich seit Jahren immer wieder bei Gelegenheit des mikroskopischen Kursus mich damit befaßt nach einer einfachen gut ausführbaren Methode der Färbung von Schnitten durch Knochenknorpel zu suchen. Folgendes Verfahren kann ich auf das angelegentlichste empfehlen.

Die Färbbarkeit hängt beim Knochen sehr wesentlich von der Vorbehandlung ab. Ich benutze frische menschliche Knochen, welche noch bedeckt von den Weichteilen sind, und lege sie in 96prozentigen Alkohol ein. Von diesem Materiale decke ich meinen Bedarf. Ich entnehme dem Mittelstück eines kleineren Röhrenknochens unter Erhaltung des Periosts Stücke bis zu 1 cm Länge und lege sie behufs Entkalkung in 5prozentige Trichloressigsäure ein; nach der Entkalkung übertrage ich in starken Alkohol (96prozentigen), welcher viele Male gewechselt wird, bette schließlich in Celloïdin ein und fertige Schnitte von 20 bis 25 μ Stärke an.

Sehr dicke Knochen, wie die Tibia, werden auf diese Weise weder gleichmäßig gehärtet, noch gleichmäßig von der Trichloressigsäure durchdrungen. Daher benutze ich entweder die dünneren Teile von Radius und Ulna oder die Metakarpalknochen. Letztere geben sehr hübsche Bilder, da sie auch die Grundlamellen in reicher Entwicklung zeigen, was ja nicht bei allen Skeletteilen so der Fall ist.

An den Schnitten entferne ich das Celloïdin nicht; sollte das Knochenmark noch Fett enthalten, so entfette ich zunächst in Äther, ehe ich färbe.

Die Vorteile der bisher geschilderten Proceduren bestehen darin, daß einmal der Alkohol den Knochen samt seinen Weichteilen genügend gut konserviert, daß die Trichloressigsäure nicht zu kompakte Knochenstücke schnell und gut entkalkt, daß die Schneidbarkeit vorzüglich ist und eine gute Färbbarkeit schließlich hinterbleibt.

Das Färbungsverfahren besteht einfacherweise darin, daß man die Schnitte zunächst in Delafieldschem Hämatoxylin tingiert und weiterhin Boraxkarmin einwirken läßt. Da dieses letztere Karmin stark alkalisch ist, so kommt an den mit Hämatoxylin gefärbten Schnitten ein dreifacher Effekt zustande: 1) wird der Schnitt alkalisch und die Farbe des Hämatoxylins geht somit in ein reines Blau über; durch die Alkaleszenz der Schnitte wird die Haltbarkeit des Hämatoxylins garantiert; 2) wird das Hämatoxylin teilweise extrahiert, was in unserem Falle einer histologischen „Differenzierung" der Schnitte gleichkommt; 3) nimmt der Schnitt das Karmin auf, so daß eine bestimmt charakterisierte Doppelfärbung entsteht. Nachdem die Schnitte alsdann mit dünnem Alkohol abgewaschen worden sind, können sie in 75prozentigem Alkohol beliebig lange aufbewahrt werden. Beim Versuch, sie in Kanadabalsam einzulegen, schrumpfen sie stark zusammen, und ich lege sie daher in alkoholischen Glyzerinleim ein, dessen Rezept ich weiter unten mitteile. Zunächst mag es erlaubt sein, noch einige Einzelheiten, welche die Färbungsmethode betreffen, durchzusprechen.

Das Delafieldsche Hämatoxylin wende ich sehr verdünnt an und überfärbe nicht gerne, denn es zeigt sich, daß das Hämatoxylin beim Einbringen in die alkalische Boraxkarminlösung stark nachdunkelt. Wenn man ein überfärbtes Hämatoxylinpräparat extrahieren will, so gebe man zu einer reichlichen Menge destillierten Wassers wenig Essigsäure.

Das Delafieldsche Hämatoxylin (vgl. Schaffer, Artikel „Knochen und Zähne" in der „Enzyklopädie") färbt bei unseren Schnitten in sehr hübscher Weise die „Grenzscheiden" der Knochenkanälchen, so daß das Kanalsystem der Grundsubstanz gut hervorzutreten pflegt. Ferner färbt es die Grundlamellen dunkler, die Haversischen Lamellen heller. Es ist also von vornherein eine gewisse färberische Differenzierung der Lamellensysteme vorhanden. Weiterhin erhält

man eine Kernfärbung aller Zellen, sowie eine Hervorhebung der (wenig bekannten) Kitt- und Ansatzlinien aller Lamellensysteme verschiedener Art und verschiedenen Alters.

Beim Einlegen in das Karmin schreitet die Differenzierung der Lamellensysteme in gleichem Sinne fort: es extrahiert sich das Hämatoxylin leichter aus den Haversischen Lamellen, schwerer aus den Grundlamellen. Diese bleiben daher dunkler, jene werden in stärkerem Grade aufgehellt; umgekehrt aber färbt das Karmin die Haversischen Lamellen dunkler, die Grundlamellen heller, wodurch eine schöne, unter Umständen starke, prächtige Kontrastfärbung der Lamellensysteme zustande kommt. Die Färbung der Kerne, Grenzscheiden, Kitt- und Ansatzlinien bleibt bestehen, bezw. tritt noch deutlicher zutage als vorher.

Die Kontrastfärbung der Lamellensysteme muß nun wohl einen in der Sache selbst liegenden Grund haben. Nach sorgfältiger Durchmusterung meiner Präparate kann ich mich nur dahin entscheiden, daß im allgemeinen die im Verhältnis älteren Lamellen relativ mehr Hämatoxylin als Karmin, die jüngeren umgekehrt mehr Karmin als Hämatoxylin aufnehmen. Durch die Superposition beider Färbungen wird der lebhafte Kontrast bewirkt. Fast überall, wo ein jüngeres Lamellensystem sich an die Stelle eines älteren gesetzt hat, gewahrt man, daß das jüngere System stärker rot, das ältere stärker blau gefärbt ist. Man würde also diese Methode der Färbung auch für wissenschaftliche Untersuchungen benutzen können.

Nach dem Einlegen in Glyzerinleim findet im Laufe von Wochen, Monaten, Jahren eine Umfärbung der Präparate statt. Diese beruht darauf, daß das Karmin in dem Glyzerinleim löslich ist, während das Hämatoxylin allerdings konstant bleibt. Die Karminfärbung pflegt aus diesem Grunde bei einigen Schnitten diffuse zu werden, in andern erhalten sich aber die ursprünglichen Kontraste; die Hauptsache aber ist, daß das Karmin sich mit der Zeit in den Knochenhöhlen und teilweise auch in den Knochenröhrchen niederzuschlagen beginnt, wodurch sich allmählich eine prächtige Färbung der Knochenzellen und der Ausläufersysteme erzeugt. Vielfach findet man späterhin in den Knochenhöhlen einen leuchtend rot gefärbten Plasmakörper, während die Ausläufer zum Teil wie früher blau, zum Teil ebenfalls rot gefärbt sind. Bestenfalls präsentieren sich die Lückensysteme der Grundsubstanz so, als ob sie mit Fuchsin injiziert seien. Weiterhin gewahrt man später eine differente Hervor-

hebung der Lamellen innerhalb der einzelnen Systeme, wobei die dichteren oder dunkleren Lamellen stärker gefärbt erscheinen. Dies beruht jedoch nicht darauf, daß die dunkleren Lamellen sich in der ganzen Tiefe des Präparates färben, vielmehr schlägt sich das Karmin auf der Oberfläche des Schnittes in stärkerem Grade längs den dichteren Lamellen nieder, so daß diese wie mit Karmin angetuscht erscheinen. Hieraus resultieren bei schwächerer Vergrößerung zierliche Bilder.

Da an solchen Präparaten alle Weichteile erhalten und gefärbt sind, kann man an ihnen das Periost, die oberflächlichen Resorptionsstellen mit den Ostoklasten, die Resorption älterer Lamellensysteme im Innern, die Neubildung von solchen und die zugehörigen Ostoklastenlager, ferner die Gefäße, die Volkmannschen Kanäle das Knochenmark, kurz alle in Betracht kommenden Teile des lebendigen Knochens zeigen. Nur die Sharpeyschen Fasern treten nicht deutlich hervor.

Alle Bemühungen diese Präparate in Glyzerinleim konstant zu machen, schlugen bisher fehl. Da aber die umgefärbten Präparate ebenfalls sehr tauglich sind, so sehe ich keinen Grund das Verfahren aufzugeben. Vielleicht wird es später gelingen durch vorgängige Anwendung einer geeigneten Beize (etwa Zinn, Blei oder Calcium) das Karmin unlöslich zu machen. In diesem Falle würden wir auf die nämliche Weise gar zwei Reihen von Präparaten erhalten können, solche ohne und solche mit Umfärbung, je nachdem die Beize vorausgeschickt wurde oder nicht.

Schließlich ist noch nötig die wenigen Punkte zu besprechen, die beim Einlegen der Präparate in Betracht kommen. Einige Schnitte habe ich allerdings durch steigenden Alkohol allmählich in eine Mischung von Kreosot und Terpentin und alsdann in Balsam übertragen. Hierbei schrumpfen indessen die Schnitte und da nunmehr dieselbe Farbmenge auf einen geringeren Flächenraum sich verteilt, so dunkeln die Schnitte gleichzeitig nach. Daher ziehe ich es vor die Schnitte in Glyzerinleim einzulegen. Eine passende Formel ist die folgende:

Gelatine	45
Wasser	210
Glyzerin	35
Alkohol, absoluter	70

Man löst zunächst die Gelatine unter gelindem Erwärmen im Wasser, fügt das Glyzerin hinzu und filtriert im Wärmeofen bei 56°. In

das klare Filtrat gibt man unter heftigem Umrühren tropfenweise den absoluten Alkohol hinein.

Dieser Glyzerinleim fault und schimmelt nicht, wenigstens wenn man ihn einigermaßen sorgfältig, in einem Glas mit eingeriebenem Deckel, aufbewahrt. Erkaltet ist er in dünner Schicht lederartig zäh und kautschukartig dehnbar.

Man kann nun beim Einlegen so verfahren, daß man den Schnitt aus Wasser auf den Objektträger bringt, ihn mit Fließpapier abtrocknet und glatt drückt, dann den Leim aufträgt und das Deckglas darüber gibt. In diesem Falle fängt man leicht Luftblasen. Ich verfahre daher lieber wie folgt. Ich mache eine genügende Quantität des Leims in einer flachen Glasschale flüssig, gebe die Schnitte in kleinen Portionen, zu 5 bis 6 Stück, in den Leim und übertrage sie einzeln mit dem angewärmten Spatel auf den Objektträger. Nach Auflegen eines (möglichst großen) Deckglases gebe ich dem Objektträger eine starke Neigung und presse alsdann das Deckglas kräftig an; hierauf ebnet sich der Schnitt und der Überschuß des Glyzerinleims quillt heraus. Bei Gelegenheit dieser Procedur wird gewöhnlich der Objektträger und öfters auch das Deckglas längs dessen Rändern von der Leimmasse überschwemmt, da aber der Leim in einigen Tagen eine lederartige Konsistenz annimmt, kann dann die übergequollene Masse in Form eines zusammenhängenden Häutchens reinlich abgezogen werden.

Es ist durchaus notwendig das Deckglas so fest auf den Schnitt aufzupressen, daß letzterer zwischen Deckglas und Objektträger völlig eingeklemmt wird. Tritt nämlich später die allmähliche Lösung des Karmins ein, so ist, falls die beiden Flächen des Schnittes sich aufs innigste mit den Glasflächen berühren, das Karmin gezwungen durch das Lakunensystem des Schnittes hindurchzudiffundieren. Dies ist, wie mir wenigstens scheint, die Ursache der nachträglichen Färbung der Knochenzellen und Knochenkanälchen. Es empfiehlt sich daher, solange der Leim noch flüssig ist, mit dem verkehrten Ende eines Nadelhalters das Deckglas auf den Schnitt durch Massagebewegungen anzudrücken. Eventuell empfiehlt es sich, den Objektträger für einige Minuten auf den Paraffinofen zu legen und das Deckglas mit Bleigewichten so schwer zu belasten, daß eine innige Adhäsion der Schnittoberflächen am Glase erzielt wird.

Mit diesen Präparaten habe ich sehr hübsche Lehrerfolge in den mikroskopischen Kursen erzielt; auch benutze ich sie ständig bei den Demonstrationen. Sobald man sich darauf eingearbeitet hat

die beiden Färbungen in Hämatoxylin und Karmin kunstgerecht gegeneinander abzuwägen, kommt man zu schönen Resultaten und ich hoffe, daß dieses „Kurspräparat“ auch anderwärts aufgenommen werden wird.

[Eingegangen am 16. September 1905.]

Über die Massenfärbung mikroskopischer Schnitte auf Glimmerplatten.

Von

Prof. Dr. Martin Heidenhain

in Tübingen.

Hierzu zwei Holzschnitte.

Als ich im Jahre 1899 nach Tübingen übersiedelte, übernahm ich von meinem verehrten Freunde und Vorgänger M. v. Lenhossék das Verfahren Schnitte zu Unterrichtszwecken en masse auf Glimmerplatten zu färben.

In Würzburg war es zu meiner Zeit Sitte, die meisten Kurspräparate „frei“ zu behandeln, d. h. ohne vorherige Aufklebung. Aufgeklebt wurden nur wenige feinere Präparate, welche zuvor durchgefärbt wurden. Der Wunsch, die feinere Technik der Mikroskopie auch für die Kurse zu verwerten, bewog mich dem Vorgange v. Lenhosséks zu folgen und so habe ich in den verflossenen Jahren die Methode der Massenfärbung auf Glimmerplatten soweit ausgebildet, daß auch meine studentischen Assistenten dieselbe sich aneignen und ausführen können.

Der allgemeine Modus procedendi ist selbstverständlich der gleiche wie beim Aufkleben und Färben von Schnitten auf Objektträgern. Jedoch gestaltet sich die Technik bei gleichzeitiger Verarbeitung einer sehr großen Anzahl von Schnitten und Verwendung entsprechend großer Glimmerplatten naturgemäß etwas anders und so will ich für diejenigen, die der Sache noch nicht näher getreten sind, den Vorgang kurz schildern.

1) Anfertigung der Paraffinschnitte. Wenn eine sehr große Anzahl von Schnitten auf Glimmerplatten aufgelegt werden soll, so ist es unvermeidlich, sämtliche Schnitte ohne Unterbrechung hintereinander abzuziehen und sie auf einer reinen Unterlage aufzusammeln; erst später kann dann die ganze Serie in zusammenhängender Arbeit auf den Glimmer übertragen werden. Nur auf diese Weise wird eine gleichmäßige schöne Arbeit geliefert und nur so können später gleichmäßige schöne Färbungen entstehen.

Als Unterlage für die Schnitte benutze ich Zigarrenkästen, welche zugeschlagen und mit weißem Schreibpapier überspannt werden. Die auf diese Weise erhaltenen Tischchen kann man leicht vor dem in allen Laboratorien reichlich niederfallenden Staube schützen, wenn man ein zweites Blatt Schreibpapier benutzt, um eine Art Deckel oder Klappe herzustellen, welche über das Tischchen hinweggeschlagen werden kann, sobald dasselbe außer Funktion ist.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich empfehlen die Schnittdicke niemals geringer zu nehmen als im Hinblick auf die nachfolgende Färbung notwendig ist; denn man sollte Organe und Gewebe, welche dem elementaren Unterrichte in der Mikroskopie dienen, nie in stärkerem Grade zerschneiden als irgend notwendig ist.

2) Die Glimmerplatten. Die Platten sollten so dünn wie möglich, aber noch von genügender Haltbarkeit sein. Sind sie verunreinigt, so kann man sie nicht durch Abwischen mit nassen Tüchern oder auf ähnliche Weise reinigen; denn wenn man auf die Fläche einer Glimmerplatte einen irgendwie stärkeren Druck ausübt, entstehen in ihrem Innern leicht feinste irisierende Sprünge, welche späterhin die Untersuchung erheblich stören. Vielmehr entfernt man Staub- und Schmutzteilchen meiner Erfahrung nach am leichtesten, wenn man die Platte vermittels eines kräftigen Strahles aus der Spritzflasche gründlich abwäscht.

3) Das Auftragen der Schnitte auf die Platte. Die angenäßte Glimmerplatte wird in hinreichender Weise mit Wasser oder Eiweißlösung beschickt. Als Eiweißlösung verwerte ich eine schwach alkoholische Lösung von Serumalbumin (Albumin aus Blut, puriss, von Merck in Darmstadt; 100 gr = 2·50 Mark). Das Albumin wird in einer Reibschale zu feinstem Mehle gerieben; 4 gr davon werden auf 100 Wasser gegeben und die Mischung kräftig geschüttelt. Darauf läßt man 24 Stunden lang absetzen, dekantiert und filtriert die Lösung und versetzt sie schließlich mit dem gleichen Volumen 50prozentigen Alkohols.

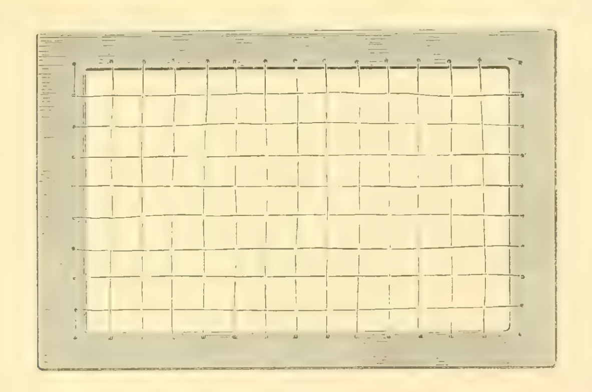
Man kann nun die mit Flüssigkeit beschickte Glimmerplatte nicht leicht aus freier Hand in zweckmäßiger Weise regieren. Die Flüssigkeit wird trotz Aufwendung aller möglichen Geschicklichkeit gelegentlich über die Ränder der Platte hinweglaufen, wobei sie dem Arbeitenden über die Hände fließt; zudem veranlassen unbeabsichtigte Bewegungen der Platte leicht ein Fortschwimmen der Schnitte u. s. f., u. s. f. In der Tat ist es nicht möglich besonders größere Platten, — und ich benutze solche bis zu 20 cm im Geviert —, mit vollkommener Sicherheit in der Linken zu halten und entsprechend zu bewegen, während die Rechte die Schnitte aufträgt; gelingt das Kunststück einige Male, so wird es ein ander Mal mißglücken. Der Grund hierfür liegt meines Erachtens nach darin, daß die Glimmerplatte für sich allein zu leicht ist; es mangelt eine genügende Wirkung der Schwere auf die Hand und es fehlt der letzteren infolgedessen das richtige Gefühl für die feinere Orientierung der Platte im Raum und die Kontrolle durch das Auge allein genügt nicht. Es handelt sich mithin darum eine gute, verläßliche, sichere Handhabe für die Glimmerplatte zu finden, vermittels deren man die auf der Platte befindliche Flüssigkeitsschicht samt den Schnitten in geeigneter Weise zu balancieren vermag. Nach einigem Hin- und Herprobieren bin ich nun schon vor Jahren dazu gekommen, die Glimmerplatte auf ein in einen Holzrahmen eingesetztes Drahtnetz zu legen (Fig. 1). Dieses sehr einfache Hilfsmittel genügt allen Ansprüchen, denn wir fassen nicht mehr die Glimmerplatte, sondern den Rahmen, welcher mit der genügenden Schwere in unserer Hand lastet, so daß wir in derselben ein sehr feines Gefühl für die Neigung der Platte gegen den Horizont haben. Demgemäß gelingt es dann leicht die aufgetragene Flüssigkeitsschicht ganz nach Belieben durch feine Bewegungen der Hand auf der Platte hin- und herzuleiten.

Das Drahtnetz stellt man sich am besten selbst her. Man benutzt den Rahmen einer Schiefertafel und arbeitet in denselben ein Netz ein, dessen Drähte in einfacher Weise rechtwinklig durcheinander geflochten werden; die Maschen sollten etwa 1 qcm groß sein. Benutzt man nicht ein Netz, sondern eine solide Papp- oder Holztafel, so ergibt sich der Mißstand, daß, sobald einmal die Flüssigkeit über die Ränder der Glimmerplatte hinausfließt, sie sich in den kapillaren Spaltraum unter der Platte hineinzieht; alsdann haftet die Platte durch Adhäsion fest auf der Unterlage und man pflegt sie ohne Gewaltanwendung, wobei leicht Beschädigungen eintreten, nicht mehr loszubekommen. Die Verwendung des Drahtnetzes garantiert

außerdem eine größere Reinlichkeit und ermöglicht die Benutzung sehr großer Glimmerplatten.

Die aufgelegten Schnitte sollten sich nicht nach allen Seiten hin vollständig berühren; vielmehr muß zwischen ihnen immer noch soviel freier Raum bleiben, daß sie sich bei der nachfolgenden Erwärmung bequem glatt strecken können. Es ist daher am besten, wenn die Paraffinschnitte nicht rechteckig sind und sich nur mit einigen Spitzen berühren. Größere Schnitte legen sich bei weitem leichter auf als kleinere, weil sie schwerfälliger sind, nicht vollständig schwimmen und daher teilweise auf der Platte festliegen.

4) Erwärmung und Streckung der Schnitte. Fixiert man Schnitte auf dem Objektträger, so geschieht die Prozedur des



1.

Streckens auf dem Bornschen Tischchen. Ich habe daher früherhin die mit Schnitten beschickte Platte in einiger Entfernung über dem Bornschen Tischchen freihändig hin- und herbalanciert, bis die Schnitte vollkommen gestreckt waren. Nunmehr lasse ich zu diesem Zwecke die Platte auf dem Drahtnetz liegen. Weiterhin habe ich das heizbare Tischchen abändern müssen.

Es ist nämlich der Schnabel des Bornschen Tischchens so schmal, daß, wenn bei geringem Luftzug die Flamme seitlich ausweicht, neben dem Schnabel ein glutheißer Lufthauch emporkommt, wodurch die Schnitte zum Schmelzen kommen. Auch ist die Anwärmung der Luftmasse über dem Bornschen Tischchen überhaupt zu ungleichmäßig, als daß bei einer irgendwie größeren Platte eine allerseits gleichartige Einwirkung auf die Schnitte erzielt werden könnte. Ich habe mir daher

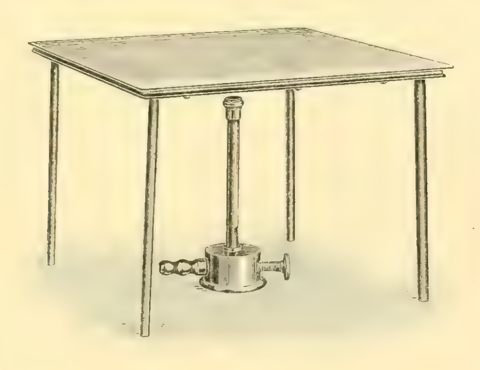
ein größeres Tischchen mit doppelter Platte anfertigen lassen, welches vortreffliche Dienste leistet (Fig. 2). Seine Höhe beträgt 15 cm; die Form ist quadratisch bei 21 cm Seite. Die Platte des Tischchens ist verdoppelt: beide Platten sind um die Dicke eines starken Eisendrahtes voneinander entfernt, welcher am Rande des Tischchens zwischen dieselben eingeschaltet ist. Auf diese Weise fassen die Platten einen schmalen mehrere Millimeter hohen Luftraum zwischen sich und der unter dem Tischchen befindliche Mikrobrenner erhitzt daher direkt nur die untere, indirekt den Luftraum und die obere Platte. Das Tischchen erwärmt sich langsam und gleichmäßig; bringt man also die auf dem Drahtnetz ruhende Glimmerplatte in passende Entfernung darüber, so kann man die Streckung leicht und gefahrlos besorgen.

Ist dies geschehen, so lasse ich den Überschuß der Flüssigkeit in sehr vollkommener Weise ablaufen, sauge auch mit Fließpapier alle sichtbaren größeren Flüssigkeitsmengen ab. Die Platte wird alsdann in den Wärmofen gebracht, wo die Schnitte bei 33° bis 35° sich vollkommen ausebnen und fixieren können.

5) Die Färbung wird jeder geschickte Mikroskopiker ohne weiteres in entsprechender Weise handhaben können. Es sind daher nur wenige Worte nötig. v. Lenhossék benutzte als Färbeschalen die bekannten rechteckigen photographischen Glaswannen und ich bin dabei im wesentlichen geblieben. Beim Wechseln der Flüssigkeiten muß jedoch beachtet werden, daß zwischen der Glimmerplatte und dem Boden der Schale immer eine gewisse Menge Flüssigkeit befindlich ist, welche, wenn die Übertragung von einem Reagens in das andere eine vollkommene sein soll, hinweg gewaschen werden muß. Es ergibt sich daraus die Regel, die Glimmerplatte gelegentlich aufzuheben, so daß der Boden des Gefäßes und die Unterseite der Platte abgespült werden kann. Am besten hebt man die Platte auf, wäscht den Boden des Gefäßes rein, dreht die Platte um, wäscht sie auf der vormaligen Unterseite ab, wendet die Platte wieder um u. s. f. Das Wenden der Platten geschieht am besten mit Pinzetten, welche an den Enden winklig abgeknickt und schwimmhautartig verbreitert sind (Deckglaspincette).

Vermöge dieses Verfahrens ist man in der Lage alle möglichen feinen und feinsten Methoden der Färbung für den mikroskopischen Kursus ausnützen zu können. Was mich betrifft, so habe ich alle meine neueren feinen Färbungen (Eisenhämatoxylin, Congofarben, Benzopurpurine, Blauschwarz, Violettschwarz, Neutralfarben, Chromo-

trope etc.) für den Kursus nutzbar gemacht. Noch möchte ich darauf aufmerksam machen, daß mit dem Paul Mayerschen Carmalaun, einem vortrefflichen Farbkörper, bei 12stündiger Einwirkung prächtige Schnittfärbungen erzielt werden können, welche für den Unterricht in hohem Grade tauglich sind. Da aber alle Karminlösungen dazu neigen, Sedimente abzusetzen, muß die Glimmerplatte in der Farblösung vertikal stehen. Für diesen Fall benutze ich daher als Färbewanne die bekannten flachen, parallelepipedischen Präparatengläser der makroskopischen Anatomie. Das Hereinsenken und Herausnehmen der Glimmerplatten aus der Farblösung kann man sich erleichtern, indem man die Platte auf einer als Handhabe dienenden Glasscheibe durch Adhäsion fixiert. Zu diesem Behufe



2.

beschickt man die Glimmerplatte nicht vollständig mit Schnitten, sondern läßt einen Streifen von 2 bis 3 cm frei. Dieser muß jederzeit über dem Spiegel der Farbflüssigkeit befindlich sein, damit die Adhäsion wirksam bleibt.

6) Austeilung der Glimmerplattenpräparate im mikroskopischen Kurse. Bezüglich dieses Punktes habe ich die Erfahrung gemacht, daß es keineswegs zweckmäßig ist, die Platten vor den Kursen schon durch Zerschneiden in die einzelnen Präparate aufzulösen, denn die letzteren bestoßen sich leicht gegenseitig; auch ist die Austeilung der Präparate erschwert. Somit bringe ich die unter Xylol aufbewahrte, unversehrte Platte ins Kurszimmer, schneide bei der Austeilung Streifen um Streifen herunter und trenne wiederum von jedem Streifen den einzelnen Schnitt so ab, daß er auf den untergehaltenen Objektträger des Kursisten fällt. Auf diese Weise

kann ich 50 bis 60 Präparate in 2 Minuten austeilen, eine Zeitersparnis, ohne die ich hierorts gar nicht durchkommen würde.

7) Anlegung einer Sammlung von Paraffinschnitten. Da ich hierorts die sämtlichen für den mikroskopischen Kurs benötigten Präparate allein, nur mit Hilfe zweier jedesmal ad hoc angelernter, studentischer Assistenten herstelle, ist es mir unmöglich, in jedem Jahre alle Präparate von neuem anzufertigen. Daher lasse ich von jedem Präparate die doppelte oder dreifache Anzahl der erforderlichen Schnitte herstellen und sämtlich auf Glimmerplatten fixieren. Die erübrigten Schnitte werden für spätere Jahre gut bezeichnet zwischen Fließpapier in Mappen nach Materien geordnet aufbewahrt. Auf diese Weise bin ich jederzeit in Besitz einer gewaltigen Sammlung von Paraffinschnitten, welche in jedem Augenblick gebrauchsfähig sind. Diese Sammlung erstreckt sich über alle Gewebe und alle Organe und geht der Schnittzahl nach in die Tausende. Dabei sind schließlich viele Reste von Präparaten übrig geblieben, die für den mikroskopischen Kursus wohl nicht mehr ausreichen, wohl aber gelegentlich für Spezialuntersuchungen, für Färbungsproben, für Organ- und Gewebsdiagnosen im Examen etc. dienen.

[Eingegangen am 16. September 1905.]

Über die Anwendung des Azokarmins und der Chromotrope.

Von

Prof. Dr. Martin Heidenhain

in Tübingen.

Unlängst habe ich in dieser Zeitschrift (Bd. XX, 1903, p. 179 bis 186) darüber Bericht erstattet, daß einige Amidoazokörper, nämlich die Congofarbstoffe und Benzopurpurine, mit großem Vorteil aus rein alkoholischen Lösungen auf den Schnitt aufgefärbt werden können. In dieser Art der Anwendung liegt ein neues Prinzip, da bisher nur die wässrigen Farbstofflösungen benutzt wurden. Während nämlich kein Zweifel ist, daß im letzteren Falle der für uns Histologen wesentliche Teil des Färbungsprozesses auf den chemischen Wechselwirkungen zwischen den Farbkörpern einerseits und den Eiweißkörpern der mikroskopischen Schnitte anderseits beruht, tritt bei Färbungen aus rein alkoholischer Lösung nach neueren Erfahrungen (Bethe, ich) der Chemismus zurück und es bleiben die rein physikalischen Verhältnisse der Imbibition, Adsorption und Lösung der Farbe im Schnitt als beherrschende Faktoren des Vorgangs bestehen. Man kann also offenbar ein und denselben Farbkörper in gänzlich verschiedener Weise anwenden, je nachdem man ihn in Wasser oder Alkohol löst.

Der praktische Zweck jener neuen Färbungen aus alkoholischer Lösung lief darauf hinaus die Eosine zu ersetzen. Diese letzteren sind, wie bekannt, als Nachfarbe nach Hämatoxylin seit Jahrzehnten in Gebrauch. Nichtsdestoweniger sind Eosinfärbungen eigentlich recht wenig leistungsfähig, denn 1) ziehen sie nur schwierig auf den alkalischen Schnitt, während eben doch mit Hämatoxylin gefärbte Schnitte um der Haltbarkeit willen alkalisch gemacht werden sollen; und 2) „schmieren“ sie stark, d. h. sie färben nicht scharf, sondern überziehen den Schnitt mit einer mehr oder weniger gleichmäßigen roten Tönung.

Die von mir empfohlenen Färbungen vermittels der Amidokörper sind nun in der Tat frei von den bezeichneten Fehlern, denn

sie färben auch alkalische Schnitte leicht in distinkter Weise; allein bei vielfachem Gebrauch der alkoholischen Farbstofflösungen haben sich mit der Zeit doch einige Mißstände deutlich herausgestellt, welche eine Verbesserung des Verfahrens wünschenswert erscheinen ließen.

Ein erheblicher Übelstand ist es zunächst, daß die alkoholischen Lösungen der in Betracht kommenden Benzidin- und Tolidinfarbstoffe wenig konstant sind. Es zeigte sich nämlich, daß anfänglich allerdings verhältnismäßig viel von der Trockensubstanz des Farbkörpers durch den Alkohol aufgenommen wird, daß aber kurze Zeit darauf der in Lösung befindliche Stoff in einen neuen, andersartigen, weniger löslichen Zustand übergeht und deswegen sukzessive wieder ausfällt. Daher mindert sich die Konzentration der Lösung binnen wenigen Tagen in dem Grade, daß sie unbrauchbar wird. Ja ich möchte glauben, daß je nach der Güte des absoluten Alkohols von vornherein bald mehr bald weniger Farbe löslich ist, so daß auch die anfänglich erhaltenen Lösungen nicht immer gleich gut färben.

Weiterhin machte ich die Erfahrung, daß die Haltbarkeit der fertigen in Balsam aufgestellten Präparate zu wünschen übrig ließ. Hier kommt in erster Linie in Betracht, daß die Congofarbstoffe und Benzopurpurine bei den Technikern als nicht-lichtecht gelten. In den von mir beobachteten Fällen allerdings kann ich wohl mit gutem Grunde die Schuld an dem Zurückgehen der Farbe auf jene geringen Jodmengen schieben, welche in Sublimatpräparaten nach dem Jodieren derselben bei nicht genügender Vorsicht leicht zurückbleiben. Es zeigte sich nämlich, daß verschiedene, gleichzeitig hergestellte Schnitte desselben Präparates teils die Farbe bewahrten, teils auch nicht; letzteren Falls machte sich dabei eine deutliche Abänderung der Farbentönung in der Richtung nach Schwarz kenntlich. Da nun die einzige Variable nur in dem geringen Jodgehalt gegeben sein konnte, so stellte ich daraufhin einige Versuche an, und es zeigte sich sofort, daß durch Jod die roten Amidoazokörper aus wässriger Lösung in schwärzlichen Massen ausgefällt werden. Da nach früheren Erfahrungen auch die Farben der Triphenylmethangruppe (Methylviolett, Fuchsin, Biondische Lösung etc. etc.) nach der Jodierung der Schnitte leicht verbleichen, so leitet sich hieraus die Regel ab, daß man aus jodierten Präparaten das freie Jod vollständig entfernen soll, z. B. durch kurzes Eintauchen der Schnitte in eine schwache Sublimatlösung (1 : 1000). Dieser Fehler der Technik wäre also leicht zu beheben; allein da blieb noch die Frage der Lichtunechtheit und der Inkonstanz der Lösungen,

und so erschien es mir besser noch einmal auf die Suche zu gehen, um Farbkörper zu finden, welche bei gleichen Vorzügen frei sind von den Schwächen der Congofarben und Benzopurpurine.

Ich habe nun eine größere Reihe saurer Farbkörper in Anwendung gezogen und darunter einige gefunden, welche gute, zum Teil glänzende Resultate liefern, während mit der Mehrzahl allerdings gar nichts anzufangen war.

Sehr schöne Resultate hatte ich zunächst mit dem Azokarmin B. (Bad. Anilin- u. Sodafabr. Ludwigshafen). Dieser Farbkörper ist wiederum eine Amidosäure, nämlich das saure Natriumsalz der Phenylrosindulintrisulfosäure. Er löst sich einigermaßen leicht in Alkohol, mehr noch in Methylalkohol und liefert prachtvolle, scharfe, rubinrote Färbungen des Bindegewebes, welches er einschließlich der feinen Basalmembranen unter den Epithelien vorzüglich tingiert. Die Färbung erstreckt sich in zweiter Linie auch auf das Protoplasma, besonders der Epithelzellen, Muskelzellen, Eier u. s. f. Ebenso besteht eine gewisse Neigung für Schleimfärbung, so daß in einigen Fällen die Mucingranula gut hervortraten.

Hier wie bei allen andern Färbungen aus absolutem Alkohol zeigte sich, daß chromierte Präparate die Farbe schneller aufnehmen als nichtchromierte Objekte; doch bedurfte es nur eines längeren Zuwartens, um fast in allen Fällen vortreffliche Resultate zu erhalten, so daß ich mit diesem Mittel massenhafte Präparate zu Kurszwecken herstellen konnte.

Dieser Farbkörper soll nun ganz besonders echt sein und demgemäß habe ich bisher ein Zurückgehen der Farbe nicht wahrnehmen können. So wäre nun alles in schönster Ordnung, wenn nicht der Farbkörper eine Eigenheit hätte, die bei vielfachem Gebrauche öfters störend hervortritt; er setzt sich nämlich hin und wieder auf der Oberfläche der Schnitte in kleinen Kristallen ab. Da die Lösungen immer gut filtriert wurden und ganz klar waren, kann es nur die Rauhigkeit der Schnittoberfläche sein, welche bewirkt, daß der Körper aus der konzentrierten Lösung gerade an dieser Stelle sich ausscheidet. Wurden aber nicht-konzentrierte Lösungen verwendet, so fielen die Tinktionen bei den nicht-chromierten Präparaten mangelhaft aus. Ich komme also zu dem Schlusse, daß ich zwar viele tadellose, zum Teil prachtvolle Präparate vermittelst des Azocarmins erhalten habe, daß der Körper aber trotzdem für den fortwährenden Gebrauch, besonders bei Massenfärbungen für den Unterricht nicht allgemein anwendbar ist. Will man den

Farbstoff für spezielle Zwecke verwerten, was ich nur anempfehlen kann, so lasse man die frisch hergestellte, konzentrierte Lösung einige Tage stehen, damit der Farbstoff, da er die Neigung hat auszukristallisieren, so weit als möglich sich absetzt. Hat man dennoch Kristalle auf der Schnittfläche erhalten, so bringe man die Präparate in Wasser, in welchem die Farbkörperchen augenblicklich in Lösung gehen. Für chromierte Präparate empfiehlt sich die Verwendung nicht ganz konzentrierter Lösungen.

Bei weitem angenehmer gestalten sich alle Umstände bei einer zweiten Klasse von Farbkörpern, bei den Chromotropen (Höchster Farbwerke). Diese färben leicht und tadellos aus alkoholischen Lösungen, welche nicht einmal konzentriert zu sein brauchen. Sie ziehen auf den alkalischen Schnitt bei jeder Art der Vorbehandlung, sie schmieren nicht, sondern zeichnen differente Bilder, sie tingieren in prachtvoll roten Nüancen und sind, wie versichert wird, in hohem Grade haltbar. Diese Farbkörper haben, wie ich glaube, in der Praxis der Histologie eine große Zukunft vor sich und werden die Eosine vielfach ersetzen.

Die Chromotrope leiten sich sämtlich von der Chromotropsäure ab und sind Azoderivate der letzteren.

OH OH

$SO_3H \cdot$ [Naphthalinring] $\cdot SO_3H$

Chromotropsäure.

Bei dieser so beschaffenen Konstitution sind für den Techniker die beiden in Peristellung befindlichen Hydroxylgruppen wichtig. Diese verleihen dem Körper, auch wenn die beiden Sulfonsäuregruppen durch Na abgesättigt sind, einen schwachsauren Charakter. Das gleiche gilt für die von der Chromotropsäure sich ableitenden gelb- bis blaurot getönten Azofarbstoffe. Als Beispiel setze ich die Formel des Chromotrop 2 R her, mit welchem ich in der Tat Tausende von Schnitten tingiert habe.

OH OH

$— N = N \cdot C_6H_5$

$SO_3Na \cdot$ [Naphthalinring] $\cdot SO_3Na$

Chromotrop 2 R.

Es können nun diese Farben auf Grund ihres schwachsauren Charakters Metall aufnehmen (Fe, Cu u. s. f.), wodurch sie eine deutliche Abänderung ihrer Nüance erleiden, ein Umstand, der für den Techniker sehr wichtig, für den Mikroskopiker einstweilen ohne Bedeutung ist.

Eine solche Konstitutionsformel, wie die zitierte, läßt nun gewisse Vergleiche mit dem Aufbau des Alizarins zu,

OH

OC

· OH

CO

Alizarin.

denn die beiden benachbarten Hydroxyle verleihen dem Alizarin einen ausgesprochen sauren Charakter, weshalb es befähigt ist, mit basischen Körpern Salze zu bilden, wobei die gelbliche Farbe des freien Alizarins in Rot übergeht.

Es kann daher nicht auffallen, daß die Chromotrope ebenso wie die Alizarine beizenziehende Farbkörper sind, nur mit dem Unterschiede, daß die ersteren auch ohne vorgängige Beize aus Wasser oder Alkohol aufgefärbt werden können. Aus allem diesem erhellt, daß die Chromotrope auf drei sehr verschiedene Weisen verwendet werden können. Man kann nämlich färben:

1) aus wässeriger Lösung, und zwar
   a. auf eine Metallbeize, wobei die Hydroxyle ins Spiel kommen;
   b. oder ohne Beize unter Zusatz freier Säure, wobei die Sulfonsäuregruppen aktiv werden und die Verankerung der Farbe am Schnitt bewirken.
2) aus alkoholischer Lösung, wobei der Chemismus weniger wirksam wird und die physikalischen Faktoren des Färbungsprozesses in den Vordergrund treten.

Über die aus wässeriger Lösung möglichen Färbungen stehen mir einstweilen noch keine Erfahrungen zu Gebote; jedoch habe ich die Absicht, die Chromotrope auch nach dieser Richtung hin genauer zu bearbeiten. Man würde nämlich, wenn man aus saurer Lösung auffärbt, offenbar die Hydroxyle für die Einwirkung einer nach-

folgenden basischen Farbe frei behalten, mit andern Worten: wahrscheinlich werden sich diese Farbstoffe vorzüglich für Neutralfärbungen eignen, ein Gebiet, mit welchem ich mich bereits vielfach beschäftigt habe.

Die Tabellen von Schultz und Julius führen neun verschiedene Chromotrope auf. Ich selbst habe vier derartige Körper durchprobiert, nämlich die Chromotrope 2 R, 2 B, 6 B, 7 B, welche, obwohl sie der Konstitution nach teilweise erheblich voneinander abweichen,[1] doch im wesentlichen übereinstimmende, und zwar vorzügliche Eigenschaften aufweisen, so daß man bei der speziellen Auswahl die Nüance der Farbkörper, ihre Löslichkeit und andere Nebeneigenschaften berücksichtigen kann.

In dieser Hinsicht erwähne ich zur näheren Orientierung folgendes. Die Chromotrope 2 R und 2 B gehen mehr nach Gelbrot, 6 B und 7 B mehr nach Blaurot. 2 B löst sich relativ wenig in absolutem Alkohol und die Tinktionen gehen daher etwas langsam vor sich. Die an den Schnitten produzierte Nüance ist ein kräftiges Orangerot. Jedoch färbt dieser Körper im Ganzen nicht sehr tief, so daß feinere Strukturteile hell bleiben, und daher sind die andern Chromotrope entschieden vorzuziehen.

Der Chromotrop 2 R löst sich stärker als 2 B, jedoch geht beim Filtrieren der alkoholischen Lösung ein guter Teil des aufgeschwemmten Farbkörpers durch den Filter hindurch. Dies schadet nun nichts, denn beim Auswaschen des gefärbten Präparates in reinem Alkohol löst sich das Sediment, welches sich auf den Schnitten niedersetzt, in leichtester Weise. Außerdem kann man gänzlich ohne Schaden für die nachfolgende Färbung das trübe Filtrat so stark mit reinem Alkohol verdünnen, daß alle suspendierten Teilchen sich klar lösen. Die an den Schnitten erhaltene Nüance ist ein sehr schönes, kräftiges Kirschrot.

Die Chromotrope 6 B und 7 B verhalten sich ganz ähnlich und sind in ähnlicher Weise zu behandeln. Jedoch sind sie viel dunkler und die an den Schnitten erhaltene Nüance ist ein prächtiges Rubinrot.

Die histologischen Färbungsresultate sind wirklich exzellent. Die bindegewebigen Teile werden prächtig dargestellt; auch die Basalmembranen, teilweise selbst das Reticulum der lymphatischen Organe nehmen die Farbe an. Die elastischen Fasern bleiben allerdings ununterscheidbar; wo aber starke, elastische Häute vorhanden

[1]) Die Formeln siehe in Pflügers Archiv Bd. XC, p. 212.

sind, treten sie stark gefärbt hervor. Embryonale Knochensubstanz färbt sich sehr stark, ein Umstand, den ich zu Kurszwecken ausnützte. Schleimfärbungen kommen nicht immer zustande; es gelang mir aber mittels des Chromotrop 2 R die verschleimten Teile des Oberflächenepithels des Magens prächtig zu färben.

Diese Farbkörper wirken auch protoplasmafärbend, und zwar in günstigem Sinne, d. h. mit der Tendenz zur Differentiation sehr feiner Teile. Hierüber liegen mir mehrfache Erfahrungen vor. Im ganzen habe ich bisher über 30 verschiedene Gewebe und Organe mit verschiedenen Chromotropen gefärbt und bin fast immer zu trefflichen Resultaten gekommen, besonders auch bei den Massenfärbungen für die mikroskopischen Kurse. Daher glaube ich, daß diese Farbstoffe sich binnen kurzem einbürgern und ein dauerndes Hilfsmittel in der Hand der Mikroskopiker sein werden.

Die gesammte Färbungsprocedur ist also denkbar einfach und verläuft in folgenden Stationen:

1) Kernfärbung in Delafieldschem Hämatoxylin; eventuell Differenzierung desselben, Abwaschen in Wasser, Einlegen in 96prozentigen Alkohol.

2) Alkaleszieren der Schnitte. Hierzu benutze ich nach vielen Versuchen einen ammoniakalischen Alkohol, welcher auf 1 Liter absoluten Alkohol 1 cbcm Salmiakgeist enthält. Die Schnitte bläuen sich in kürzester Zeit. Der alkalische Alkohol wird darauf in das Standgefäß zurückgegossen und durch reinen Alkohol ersetzt.

3) Färbung vermittels einer alkoholischen Chromotroplösung; diese Lösung kann konzentriert sein, aber auch verdünnte Lösungen verlieren die Färbekraft nicht.

4) Auswaschen in reinem absoluten Alkohol, Xylol, Balsam.

[Eingegangen am 16. September 1905.]

Über eine einfache Methode zur Bestimmung der Brechungsexponenten von Flüssigkeiten.

Von

Anton Pauly
Wien.

Hierzu eine Textfigur.

Zahlreiche mineral-mikroskopische Arbeiten, bei welchen es wünschenswert war, die Brechungsexponenten von Flüssigkeiten zu bestimmen, führten mich dahin, Versuche zu unternehmen, um eine Methode zu finden, mittels welcher man, ohne kostspielige Apparate, an einer sehr geringen Menge von Flüssigkeit den Brechungsexponenten bestimmen kann, und zwar sollte dies mit einer erreichbaren Genauigkeit von 2 bis 3 Einheiten der vierten Dezimalstelle geschehen können.

Die Methode beruht auf folgender Überlegung, die eine glückliche Modifikation der Ambronnschen Methode (siehe: Ambronn, H., Königlich sächsische Akademie der Wissenschaften, 1893, p. 3) darstellt.

Der geometrische Ort aller Indices bei einem optisch einachsigen Mineral ist ein Rotationsellipsoid. Jeder Schnitt durch ein solches Rotationsellipsoid, vorausgesetzt, daß er durch den Mittelpunkt geht, bildet eine Ellipse.[1]

Sind die zwei Achsen der Ellipse gegeben, so läßt sich jeder Radiusvektor berechnen, wenn der Winkel, den er mit den Achsen einschließt, gegeben ist.

$$p_1 = \frac{a \cdot b}{\sqrt{b^2 \sin^2 (ap) + a^2 \cos^2 (ap)}}.$$

Da aber die Achsen der Ellipse gleich den Hauptbrechungsexponenten des einachsigen Minerales gemacht werden, $a = \omega$, $b = \varepsilon$,

[1] Vgl. Rosenbusch, H., Mikroskopische Physiographie der Mineralien, 1904, p. 68.

so sind die Radiusvektoren $p = n$, gleich den zwischen $a = w$ und $b = \xi$ liegenden Brechungsexponenten n, und der unter dem Winkel (wn) zu w gerichtete Index ist gleich (nach obiger Formel),

$$n = \frac{w \cdot \xi}{\sqrt{\xi^2 \sin^2 (wn) + w^2 \cos^2 (wn)}}.$$

Beim Doppelspat sind die Hauptbrechungsexponenten (bei Na-Licht) $w_{Na} = 1·6585$, $\xi_{Na} = 1·4864$, alle andern Indices zwischen 1·6585 und 1·4864 liegen auf der Ellipse.

Hat man also eine parallel zur Hauptachse geschnittene Doppelspatplatte, so kann man damit alle Brechungsexponenten von 1·4864 bis 1·6585 messen, wenn man den Winkel (wn) kennt, indem man jenen Brechungsexponenten sucht, der gleich dem Index der zu untersuchenden Flüssigkeit ist, und indem man die Richtung, d. h. den Winkel (wn) bestimmt.

Bei der praktischen Ausführung verfährt man auf folgende Weise: Man gibt von der zu untersuchenden Flüssigkeit ein Tröpfchen auf die Doppelspatplatte, bedeckt mit einem Deckglas, und schaltet den Polarisator zur Festlegung der Schwingungsrichtung ein. Der durch den Nikol gehende Strahl schwingt nur in einer ganz bestimmten Richtung, und nur der parallel zu dieser Schwingungsrichtung liegende Brechungsexponent kann zur Geltung kommen. Da der Flüssigkeitstropfen isotrop ist, ist bei demselben der Brechungsexponent nach allen Seiten hin der gleiche. Nach eingeschaltetem Polarisator dreht man den Objekttisch mit dem Präparat so lange, bis die Unebenheiten der Oberfläche desselben oder die Grenzen des Randes verschwinden. (Über das Verschwinden der Grenzen und die dabei auftretenden Farbenerscheinungen siehe: Schröder v. d. Kolk, Kurze Anleitung zur mikroskopischen Kristallbestimmung, Wiesbaden 1898, und Ambronn, H., Königl. sächsische Gesellsch. d. Wissenschaften, Leipzig 1896.)

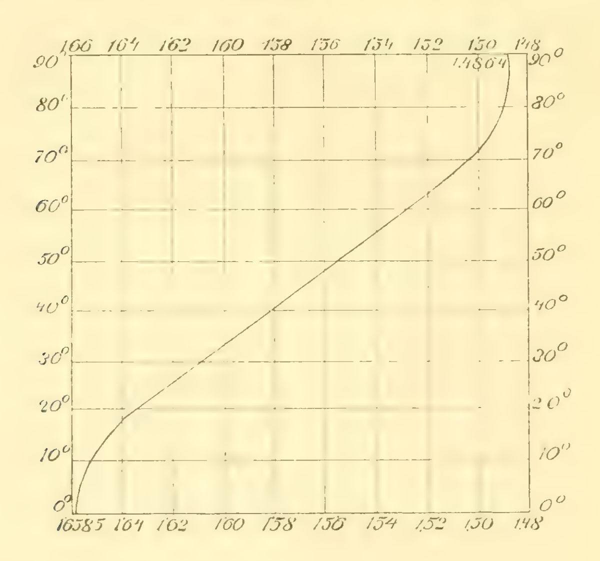
Der beim Verschwinden der Unebenheiten am Rande des Objekttisches abgelesene Winkel sei A. Hierauf dreht man weiter bis die Grenzen wieder verschwinden, die am Rande des Objekttisches nun abgelesene Zahl sei B.

Die halbe Differenz der beiden Ablesungen, $\frac{1}{2}(A - B) = V$, ist der Winkel, um den man den Doppelspat drehen mußte, d. h. der Winkel, den der zu suchende Brechungsexponent mit dem Hauptbrechungsexponenten einschließt. Aus dem Winkel V läßt sich n wie folgt berechnen:

$$n = \frac{w\,\xi_1}{\sqrt{\xi_1^2 \sin^2 V + w^2 \cos^2 V}}$$

oder man kann den Index n graphisch finden, indem man sich ein Schema anlegt, auf dessen horizontaler Koordinate man die n aufträgt, z. B. in Intervallen von 0·01 zu 0·01 und auf dessen vertikaler Koordinate man die Winkel V aufträgt, z. B. von 10^0 zu 10^0.

Beistehende Figur stellt ein solches Schema für eine ‖ der Hauptachse geschnittene Calcitplatte vor: Man hat beim Aufsuchen



des Brechungsexponenten darauf zu achten, ob der Winkel $(w\,n)$ oder $(\xi\,n)$ gemessen wurde, da sich beide zu 90^0 ergänzen. Bei diesem Schema ist der Winkel $(w\,n)$ angegeben.

Hat man kein Mikroskop mit drehbarem, in Grade geteiltem Objekttisch, so kann man das Präparat ruhig liegen lassen, und den Analysator drehen, anstatt den Polarisator einzuschalten.

Betrachtet man die Kurve dieses Schemas, so sieht man, daß bei kleinen und großen Winkeln V die Genauigkeit ziemlich groß ist, während bei mittlerem V ($V = 20^0$—70^0) die Genauigkeit nicht so groß ist, da die Kurve im ersten Falle sehr steil ist, d. h. bei großen Änderungen von V nur sehr kleine Änderungen von n stattfinden. Im mittleren Teile der Kurve ist dies aber nicht der Fall.

Will man nur Brechungsexponenten von $n = 1·567 — n = 1·658$ bestimmen, so kann man sich eines gewöhnlichen Spaltblättchens von Doppelspat bedienen.

Die bei der Spaltung entstehenden treppenförmigen Unebenheiten geben dabei vollkommene Kanten ab, deren Grenzlinie man durch Drehen zum Verschwinden bringen kann. Da die Ebene des Spaltblättchens $44^0 36'$ zur Hauptachse geneigt ist, so ist der kleinste Brechungsexponent ξ nicht 1·4864, sondern $\xi_1 = 1·567$, da ξ_1 zu ξ ebenfalls $44^0 36'$ geneigt ist.

Für größere Brechungsexponenten über 1·658 kann man sich einer ebenfalls parallel zur Hauptachse geschnittenen Platte von Eisenspat (Siderit) bedienen, deren $\xi = 1·643$ und deren $w = 1·872$ ist. Man kann daher mit einer ‖ zur Hauptachse geschnittenen Calcit- und einer eben solchen Sideritplatte alle Brechungsindices von 1·4864—1·872 bestimmen, und zwar in einer für die Praxis vollkommen genügenden Genauigkeit. Auch die Ausdehnung der Indices von 1·486 — 1·872 dürfte für die Praxis vollkommen ausreichen. Daß man natürlich zur Herstellung der Kristallplatten nur reinstes Material nehmen kann, ebenso, daß es vorteilhaft ist, die Hauptindices der Kristallplatten refraktometrisch zu bestimmen, um dieselben möglichst genau zu kennen, braucht wohl nicht erwähnt zu werden. Die Einfachheit dieser Methode dürfte wohl voraussetzen, daß sie schon hier und da in Gebrauch ist, da ich sie jedoch in der einschlägigen Literatur nicht erwähnt fand, so will ich dieselbe in der Art, wie ich sie schon über ein Jahr im Gebrauch habe, veröffentlichen.

Durch Anwendung der Immersionsmethoden, wie sie von nachstehenden Autoren ausgearbeitet wurden, und nachherige Bestimmung des Brechungsexponenten des Flüssigkeitsgemisches, kann man auch die Indices fester Körper, besonders von Mineralien bestimmen, was sehr willkommen sein dürfte.

1) Schröder van der Kolk, Kurze Anleitung zur mikroskopischen Kristallbestimmung, Wiesbaden 1898.
2) Léwy, Michel, Étude sur la détermination des Feldspats, Paris 1894. p. 58.
3) Ambronn, H., Kgl. sächs. Gesellsch. d. Wissenschaft., Leipzig 1893, p. 3.
4) Brun, A., Archiv des Sciences phys. et mathém., Genève 1894.
5) Thonlet, J., Bulletin de la Société minéralogique de France 1880, p. 62.
6) Brandão, V. de Sonsa, Zentralblatt 1904.
7) Über die Bestimmung von Brechungsexponenten von Mineralien nach dieser Methode: in Tschermaks „Mineralogischen und Petrographischen Mitteilungen“.

Einige Beispiele sollen die Brauchbarkeit und Genauigkeit dieser Methode zeigen.

1) Es ist der Index von Benzol zu bestimmen.

Die beim Verschwinden der Grenze abgelesenen Winkel seien unter A und B angegeben. Der gefundene Index $= n$, die Differenz der Ablesungen $^1/_2\,(A - B)$ sei V.

A	B	V	n
156·6°	298°	70° 42′	1·5008
298°	336·8°	19° 24′	1·5008
336·8°	117·6°	70° 24′	1·5012
117·6°	156·6°	19°	1·5016

Der Durchschnitt daraus = 1·50095.
Mittels Prisma und Ablenkung wurde gefunden n = 1·5010.

2) Der Index von Nitrobenzol ist fraglich.

A	B	V	n
357°	96°	49·5°	1·551
96°	178°	41°	1·553
178°	274°	48°	1·555
274°	357°	41·5°	1·554

Der Durchschnitt daraus = 1·55325.
Mittels Prisma n = 1·5537.

3) Der Index von Zedernöl ist zu suchen.

A	B	V	n
68°	195°	63·5°	1·5157
195°	248°	26·5°	1·5157
248°	16°	64°	1·5148
16°	68°	26°	1·5148

Der Durchschnitt daraus = 1·51525.
Mittels Prisma n = 1·5155.

4) Der Index von Methylenjodid ist?

A	B	V	n
203°	293°	45°	1·7425
293°	23·2°	45·1°	1·7421
23·2°	113°	44·9°	1·7429
113°	203°	45°	1·7425

Der Durchschnitt daraus = 1·7425.
Mittels Prismamethode n = 1·7426.

Sämtlich bei Na-Licht und 15° Celsius.

[Eingegangen am 29. September 1905.]

[Mitteilung aus dem Institut für Mikroskopie an der Universität Jena.]

Über pleochroitische Silberkristalle und die Färbung mit Metallen.

Von

H. Ambronn

in Jena.

Im Jahre 1896 veröffentlichte ich in den Berichten der Sächs. Gesellsch. d. Wiss. eine Mitteilung über die Färbung von pflanzlichen und tierischen Fasern mit Gold- und Silbersalzen und den dabei auftretenden sehr starken Pleochroismus.[1] Auch doppelbrechende Gelatine zeigte bei Behandlung mit Silbernitrat oder Goldchlorid eine ganz ähnliche Verschiedenheit in der Absorption. Ich hatte schon damals die Vermutung ausgesprochen, daß der Pleochroismus in diesen Fällen auf die Einlagerung der Metalle in ihren allotropen Modifikationen zurückzuführen sei, und daß wahrscheinlich außer der regulär kristallisierenden Form des Silbers und des Goldes noch eine in anisotropen und pleochroitischen Kristallen auftretende Form existiere. Als Stütze für diese Vermutung konnte ich damals nur die weitgehende Analogie in der Farbe der Fasern und der Gelatine mit den Farben der allotropen oder kolloidalen Metalllösungen anführen; außerdem wies ich auf den starken Pleochroismus der zuerst von Kundt[2] durch Zerstäubung hergestellten Metallspiegel hin. Versuche, die Fasern direkt mit den kolloidalen Metalllösungen zu färben, hatten zwar keinen Erfolg gehabt, ich konnte aber einige Jahre später in Gemeinschaft mit R. Zsigmondy[3] nachweisen, daß Gelatine mit kolloidaler Gold- oder Silberlösung vermischt im gespannten Zustande denselben starken Pleochroismus zeigt, wie die

---

[1]) Sitzb. d. math.-naturw. Klasse d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. Bd. XLVIII, 1896, p. 613—628.

[2]) Wiedem. Ann. Bd. XXVII, 1886, p. 61.

[3]) Sitzb. Sächs. Ges. d. Wiss. Bd. LI, 1899, p. 13—15.

mit den Metallsalzen behandelten Fasern oder Gelatinestreifen. Daraus durfte mit ziemlicher Sicherheit der Schluß gezogen werden, daß die weitgehende Übereinstimmung im optischen Verhalten in beiden Fällen auf der Identität der färbenden Körper beruhe, die in dem einen Falle direkt durch Färben mit den allotropen oder kolloidalen Lösungen, im andern Falle durch Behandlung mit Silber- und Goldsalzen in der Gelatine eingelagert werden.

Neuerdings ist es mir nun auch gelungen, meine damals ausgesprochene Vermutung noch nach einer andern Richtung zu begründen. Bei der Entstehung der Farben in den mit den Metallsalzen behandelten Fasern oder Gelatinestreifen spielt sich jedenfalls ein Reduktionsprozeß ab, und zwar erfolgt diese Reduktion in sehr engen Räumen, nämlich in den Micellarinterstitien. Welche Dimensionen hier in Betracht kommen, läßt sich natürlich nicht genau angeben, wohl aber kann man mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen, daß es sich um Strecken von nur wenigen Milliontelmillimetern handelt. Es bietet nun gar keine Schwierigkeit, auf andere Weise solche Räume herzustellen, die wenigstens in einer Richtung so kleine Dimensionen besitzen.

Wenn die chemische Natur der Fasern keine wesentliche Rolle bei dem Reduktionsvorgang spielt, so war zu erwarten, daß sich in derartigen Räumen die Reduktion jener Metallsalze in ähnlicher Weise abspielen werde, wie in den Fasern. Diese Erwartung hat sich nun insofern erfüllt, als in der Tat aus Lösungen von Silbernitrat bei geeigneter Behandlung anisotrope und sehr stark pleochroitische Kristalle sich bilden, deren sonstiges Verhalten zu dem Schlusse drängt, daß man es mit einer labilen Form des Silbers zu tun habe, deren Kristalle nicht dem regulären, sondern einem andern, vermutlich dem rhombischen Kristallsystem angehören.

Die Methode, die zur Herstellung jener äußerst engen Räume dient, ist sehr einfach; sie beruht auf demselben Verfahren, das ich schon früher zur Erzeugung sehr dünner Kristalle, z. B. von Jod, Kongorot, Methylenblau angewandt hatte.[1] Drückt man zwei ebene gut gereinigte Glasplättchen fest aufeinander, so entstehen Newtonsche Farbenringe und innerhalb der Ringe meist auch mehr oder weniger ausgedehnte Flächen, die im auffallenden Lichte schwarz erscheinen. Gerade an diesen Stellen beträgt nun die Dicke der zwischen den

[1]) Berichte d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. VI, 1888, p. 228.

beiden Platten befindlichen Schicht nur noch wenige Milliontelmillimeter ($\mu\mu$), und dieser Abstand dürfte jedenfalls den submikroskopischen Micellarinterstitien vergleichbar sein. Man verwendet zu den Versuchen am besten Objektträger aus gutem Spiegelglas und möglichst ebene Deckgläser. Die Hauptbedingung für das Gelingen der Versuche ist eine äußerst sorgfältige Reinigung der beiden Glasflächen; vor dem Auflegen des Deckglases müssen beide Flächen nochmals mit einem ganz reinen Haarpinsel abgestäubt werden. Auf den in dieser Weise vorbereiteten Objektträger bringt man nun mittels eines feinen Glasfadens eine sehr geringe Menge der Silbernitratlösung und legt dann möglichst rasch das gut abgestäubte Deckglas darüber. Bei leichtem Andrücken des Deckglases mit dem Finger erhält man breite Ringe in den Farben der ersten Ordnungen, zugleich aber auch ausgedehntere Partien, die im auffallenden Lichte nur Schwarz zeigen. Die so hergestellten Präparate läßt man nun einige Tage an einem hellen Fenster liegen, es verdunstet dabei der größte Teil der Flüssigkeit und in den farbigen Ringen bilden sich dünne Kristalle des benutzten Salzes; in den schwarzen Partien bleibt jedoch noch längere Zeit eine Flüssigkeitsschicht erhalten, deren Dicke jedenfalls, wie schon erwähnt, nur wenige $\mu\mu$ beträgt.

Meine Absicht ging nun zunächst dahin, jene dünnen Kriställchen in irgendeiner Weise so zu Silber zu reduzieren, daß gewissermaßen Pseudomorphosen von Silber nach Silbernitrat entstanden. Alle Versuche in dieser Richtung schlugen aber vollständig fehl. Dagegen ergab sich das für die vorliegende Frage viel wichtigere Resultat, daß innerhalb der äußerst dünnen Flüssigkeitsschicht stark pleochroitische Kristalle von sehr verschiedener Gestalt entstehen, deren Wachstum und Formveränderung mehrere Tage hindurch beobachtet werden kann. Es scheint also hier die Reduktion ausschließlich durch den Einfluß der Belichtung zustande zu kommen. Meist bilden sich unregelmäßig geformte dunkelblaugraue Plättchen, die bei Untersuchung im polarisierten Lichte einen sehr deutlichen Pleochroismus indigoblau-gelb oder hellblau-rotviolett zeigen. Der Umstand, daß zwei deutlich verschiedene Formen des Pleochroismus auftreten, weist darauf hin, daß es sich um optisch-zweiachsige Kristalle handelt; die äußere Form der Plättchen, sowie die Lage der Auslöschungsrichtungen läßt auf die Zugehörigkeit der Kristalle zum rhombischen System schließen; eine genauere kristallographische Bestimmung dürfte bei der meist ganz unregelmäßigen Begrenzung der Plättchen, die sich fast stets zu drusenförmigen Gruppen zusammen-

lagern, kaum auszuführen sein. Außer diesen Formen treten, wenn auch seltener, nadelartige Kristalle und in ganz einzelnen Fällen sehr regelmäßig gestaltete Sphärokristalle auf. Sowohl die Nadeln, wie die Sphärokristalle zeigen nur den Pleochroismus indigoblau-gelb; die Sphärokristalle besitzen demnach über dem Polarisator zwei blaue und zwei gelbe Sektoren, und zwar geht die Polarisationsebene des Polarisators durch die gelben Sektoren hindurch.

Es kann ja allerdings nun die Frage gestellt werden, ob man es in diesen optisch anisotropen und pleochroitischen Kristallen wirklich mit elementarem Silber zu tun habe, oder ob nicht vielmehr eine niedere Oxydationsstufe dieses Metalls vorliege. Eine völlig sichere Beantwortung dieser Frage auf Grund der bis jetzt vorliegenden Beobachtungen wird sich allerdings nicht geben lassen, doch sprechen verschiedene Gründe dafür, daß die Kristalle eine labile Modifikation des Silbers selbst darstellen. Der Charakter des Pleochroismus ist derselbe wie bei den mit Silbernitrat behandelten Fasern, und die allgemeine Annahme geht doch wohl dahin, daß in diesen Fällen eine Reduktion zu elementaren Silber vorliege. Auch die von Kundt und später von F. Braun[1] durch Zerstäubung von Drähten hergestellten, doppelbrechenden Silberniederschläge zeigen ähnliche Verschiedenheiten in der Absorption. Nicht bloß in dem optischen Verhalten besteht zwischen den in engen Räumen gewachsenen Kristallen und jenen Silberniederschlägen eine weitgehende Analogie, sondern auch noch in einem andern Punkte, nämlich darin, daß beide mit der Zeit ihre Doppelbrechung und damit natürlich auch den Pleochroismus verlieren. Bei den Kundtschen Spiegeln tritt diese Veränderung erst nach längerer Zeit ein,[2] bei den aus Silbernitratlösung entstandenen Kristallen kann man sie auf zweierlei Weise unter dem Mikroskop direkt beobachten. Sprengt man nämlich das Deckglas ab, so bemerkt man sofort nicht bloß die Veränderung im optischen Verhalten, sondern es tritt auch in der Regel eine wesentliche Veränderung der Form und der Färbung ein. Besonders deutlich kann man diesen Vorgang beobachten, wenn man Präparate wählt, in denen die Kristalle in drusenförmig zusammengelagerten Plättchen ausgebildet sind. Diese Drusen wandeln sich nach Wegnahme des Deckglases in metallisch glänzende Spiegel um,

---

[1]) Drudes Ann. Bd. XVI, 1904, p. 1—19, u. 238—281.

[2]) Vgl. Braun, F., Drudes Ann. Bd. XVI, 1904, p. 4 und Kaempf, F., ebenda, p. 324.

wobei nicht nur die frühere Begrenzung stark verändert wird, sondern auch ein Wechsel der Farbe im durchfallenden Licht von dunkelblaugrau in ein intensives Stahlblau eintritt. Auch ohne Entfernung des Deckglases läßt sich die Umwandlung leicht beobachten, wenn das Wachstum einer solchen Druse mehrere Tage hindurch unter dem Mikroskop verfolgt wird. Man sieht dann, daß in einer aus lauter stark pleochroitischen Plättchen bestehenden Druse nach drei oder vier Tagen an einzelnen Stellen der Pleochroismus völlig verschwindet und eine wesentlich anders begrenzte, metallisch glänzende Schicht entsteht. Diese Veränderung breitet sich allmählich immer weiter aus und ergreift schließlich fast die ganze Druse; nur an deren Rande entstehen immer neue pleochroitische Plättchen, die aber nach einigen Tagen dieselbe Umwandlung erfahren. Diese Umwandlung, sowie das Weiterwachsen der Kristalle scheint ganz zu unterbleiben, wenn man die Präparate nach Bildung der pleochroitischen Kristalle im Dunkeln aufbewahrt. Es ist mir sehr wahrscheinlich, daß bei dem fortschreitenden Wachstum der Drusen die Dicke an einzelnen Stellen vergrößert und infolgedessen das Deckglas etwas emporgehoben wird; es könnte dadurch sehr wohl die Entfernung zwischen Deckglas und Objektträger, die ursprünglich nur wenige $\mu\mu$ betrug, an diesen Stellen beträchtlich vergrößert werden. Ist aber eine solche lokale Erweiterung des Raumes geschaffen, dann erfolgt die eben geschilderte Umwandlung der labilen Modifikation in die stabile des gewöhnlichen Silbers.

Man würde demnach anzunehmen haben, daß in den mit Silbernitrat behandelten Fasern die labile Modifikation des Silbers in sehr kleinen gleichsinnig orientierten Kristallen eingelagert sei, und daß in den engen Micellarinterstitien dieser labile Zustand dauernd erhalten bleibe, etwa wie bei isodimorphen Mischkristallen häufig die eine Komponente in einer Kristallform erhalten bleibt, in der sie unter gewöhnlichen Verhältnissen nicht bestehen kann. Es soll hier nicht weiter auf diese Analogie zwischen gefärbten Fasern und Mischkristallen, gefärbten Kristallen und ähnlichen Gemengen eingegangen werden, nur soviel mag noch erwähnt werden, daß die Annahme des Dimorphismus für Silber und auch für andere bisher nur als regulär bekannte Metalle meines Erachtens gar nichts Befremdendes hat. Viele andere regulär kristallisierende Körper sind dimorph: auch einigen, dem Silber nahestehenden Metallen, wie Palladium und vermutlich auch den anderen Platinmetallen kommt diese Eigenschaft zu. Bemerkenswert ist auch, daß ein Goldamalgam tetragonal kristalli-

siert, während doch bisher sowohl für Gold wie für Quecksilber nur die reguläre Modifikation bekannt ist.

Wenn die Annahme begründet ist, daß bei der Silberfärbung die Einlagerung des Metalls in einer nicht regulären Form erfolgt und dadurch der starke Pleochroismus hervorgerufen wird, so ist auch zu erwarten, daß bei Färbung mit anderen Metallen ganz ähnliche Erscheinungen auftreten. Daß bei Behandlung mit Goldchlorid in den verschiedensten Fasern ebenfalls ein sehr starker Pleochroismus erzeugt wird, habe ich schon früher nachgewiesen. Inzwischen ist es nun auch gelungen, mit Platin, Palladium, Quecksilber[1], ferner mit Selen und Arsen in Nesselfasern intensive Färbungen und Pleochroismus hervorzurufen; und ich zweifle gar nicht daran, daß sich bei Versuchen mit anderen Metallen, die noch im Gange sind, ganz ähnliche Resultate ergeben werden. Es soll hier nicht näher auf diese Färbungen eingegangen werden, da demnächst an anderer Stelle darüber berichtet werden wird.

Es lag nun die Frage nahe, ob sich nicht aus Goldchlorid- und Platinchloridlösungen ebenso wie aus Silbernitrat in sehr engen Räumen anisotrope und pleochroitische Kristalle ausscheiden. Bei Goldchlorid ist es mir in der Tat gelungen, nadelförmige, stark doppelbrechende Kristalle zu erhalten, die denselben Pleochroismus weinrot-blaugrün zeigen, wie er in den mit Goldchlorid behandelten Fasern auftritt. Bei Platinchlorid habe ich bisher trotz vieler Bemühungen noch keine sicheren Resultate in dieser Richtung erhalten; ich hoffe jedoch, auch bei Platin und den anderen Metallen, mit denen Färbungen bereits ausgeführt wurden, zu ähnlichen Resultaten wie beim Silber und Gold zu gelangen.

Auch über eine weitere Frage, die von allgemeinerem Interesse ist, sollen noch Versuche angestellt werden. Da die Färbungen der Fasern mit Quecksilber leicht gelingen, so ist zu erwarten, daß sich in den Fasern, die bereits mit einem anderen Metall gefärbt sind, Amalgame erzeugen lassen.

Zum Schlusse möge noch auf die Beziehungen hingewiesen werden, die zwischen den im vorstehenden mitgeteilten Beobachtungen und den schon erwähnten Untersuchungen von F. Braun über das optische Verhalten von Metallspiegeln bestehen. Braun hat in seinen Mitteilungen mehrfach auf den Pleochroismus der mit Silber und

[1]) Vgl. Fox, K., Beiträge zur Kenntnis der Färbereivorgänge (Zeitschr. f. Farben- und Textilindustrie, IV. Jahrg., H. 11).

Gold gefärbten Fasern Bezug genommen; er hat die verschiedene Absorption in den von ihm und früher von KUNDT hergestellten Metallspiegeln auf eine Gitterwirkung zurückgeführt und diese Erklärung auch auf die Erscheinungen in den gefärbten Fasern ausgedehnt. In einem anisotropen trüben Medium oder in einem Gitter mit verschiedenen Abständen in verschiedenen Richtungen können, wie ich früher schon hervorgehoben habe [1], zweifellos Unterschiede in der Absorption auftreten; es ist nur nicht recht verständlich, warum manche intensive Färbungen von Fasern, auch solche mit Silber und Gold, absolut keinen Pleochroismus erkennen lassen. Daß bei gefärbten Fasern in manchen Fällen solche Gitterwirkungen zustande kommen, ist keineswegs ausgeschlossen; es ergibt sich aber meines Erachtens eine viel plausiblere Erklärung des starken Pleochroismus, wenn man nachweisen kann, daß die färbenden Substanzen, also z. B. Gold, Jod, Silber, Kongorot, in optisch anisotropen und pleochroitischen Kristallen existieren, oder daß wenigstens unter gewissen Umständen aus den zur Färbung benutzten Lösungen Kriställchen entstehen, die in ihrem optischen Verhalten mit dem der gefärbten Fasern eine weitgehende Übereinstimmung zeigen.

[1]) Sitzb. Sächs. Ges. Wiss. Bd. XLVIII, p. 621 u. 622.

Jena, September 1905.

[Eingegangen am 6. Oktober 1905.]

Die mikroskopische Achsenwinkelbestimmung bei sehr kleinen Kristallpräparaten.

Von

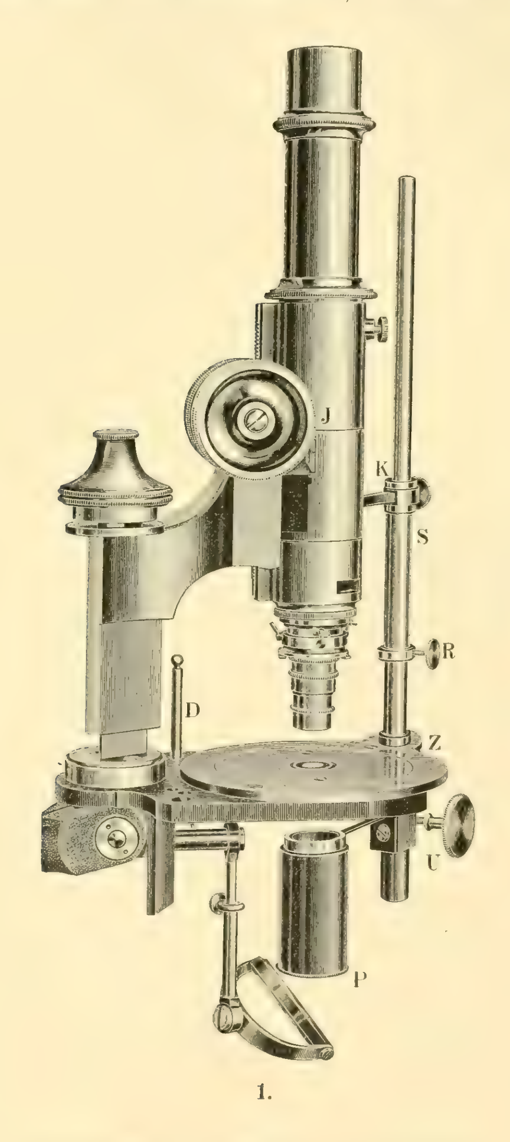
Ernst Sommerfeldt
in Tübingen.

Hierzu vier Holzschnitte.

Die Ausmessung der Interferenzbilder, welche im konvergenten polarisierten Licht bei anisotropen Kristallen entstehen, ist einfach, solange das vorliegende Präparat noch groß genug ist, um die Interferenzerscheinungen unter Mitbenutzung des Okulars beobachten zu können; mag man sich der Kleinschen oder Bertrandschen Lupe bedienen, so genügt stets die Anbringung eines Mikrometers im Okular, um die Entfernung der optischen Achsen an Platten, welche senkrecht zur spitzen Mittellinie geschnitten sind, zu bestimmen. Ist die Platte schief zu dieser Mittellinie gerichtet, so genügt zwar ein einfaches Skalenmikrometer nicht mehr, ist dasselbe aber um die Mikroskopachse drehbar und der Drehungswinkel genau meßbar, so bietet sich wiederum die Möglichkeit den Achsenwinkel zu bestimmen, denn es ist alsdann möglich beliebige Punkte des Interferenzbildes durch ihre Polarkoordinaten festzulegen und so einen Ersatz für die Beckesche Zeichenmethode zu erlangen. Man braucht ja, um die Polarkoordinaten eines beliebigen Punktes P zu bestimmen, nur die Mikrometerskala aus ihrer Anfangsstellung soweit (etwa im Betrage a) zu drehen, daß sie durch P hindurchgeht und alsdann den Abstand zwischen P und dem Mittelpunkt des Gesichtsfeldes auf dieser Skala abzulesen; dieser Abstand nebst dem Drehungswinkel α sind die Polarkoordinaten von P.

Indessen werden die Interferenzerscheinungen sehr kleiner Kristallplatten bei Mitbenutzung des Okulars so lichtschwach, daß dieses Verfahren leicht versagt, die von Lesaulx zuerst angegebene Beobachtungsmethode beim herausgenommenen Okular liefert viel deutlichere Bilder, erlaubt aber ohne weiteres nur eine qualitative Be-

urteilung, nicht eine Ausmessung derselben. Die Zeichenmethode Beckes führt zwar auch hier zum Ziel, erfordert aber einige um-

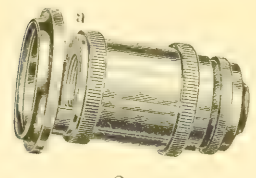


1.

ständliche Zentrierungen und überdies die Anschaffung eines nicht ganz billigen Mikroskopattributes, nämlich eines mit zentrierbarem Drehtisch ausgestatteten Zeichenapparates. Die im Folgenden zu

beschreibende Beobachtungsmethode erscheint mir sowohl in einfacherer Weise als auch mittels einfacherer Hilfsmittel ausführbar, sie beruht auf dem Prinzip, daß eine Skala, wenn sie an geeigneter Stelle unterhalb des Objekttisches und parallel demselben angebracht ist, gleichzeitig mit dem nach LASAULX' Methode erzeugten Achsenbilde scharf sichtbar sind. Auf meine Anregung hin hat die Firma R. FUESS in Steglitz diese Skala mit dem Kondensor verbunden, und zwar derart, daß der Kondensor aus drei Plankonvexlinsen besteht, deren unterste auf ihrer planen Seite die Skala trägt; der Kondensor ist so berechnet, daß eine gerade dort befindliche Skala gleichzeitig mit dem Achsenbild scharf erscheint.

Als Objektiv ist besonders zweckmäßig das von FUESS eigens für die Beobachtung von Achsenbildern in den Handel gebrachte (vgl. z. B. C. LEISS, Die optischen Instrumente der Firma R. FUESS, p. 359). Das mit Hilfe eines solchen erzeugte Interferenzbild verträgt eine nicht unbeträchtliche Vergrößerung mittels der LASPEYRESschen Lupe ohne an Lichtstärke wesentlich einzubüßen.



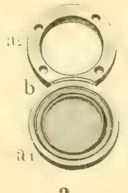
2.

Es läßt sich diese Lupe wohl für subjektive als auch für objektive Erzeugungsmethode der Achsenbilder (d. h. für Projektion resp. Mikrophotographie derselben) anwenden; ihre Stellung innerhalb des Mikroskoptubus ist jedoch in beiden Fälle eine verschiedene. Man braucht indessen nicht eine oft störend große Zahl von Durchbohrungen des Tubus vorzunehmen, sondern kann sich folgendermaßen helfen: Den „Objektivteller", mittels dessen das Objektiv im „Zangenwechsler" festgehalten wird, habe ich mit einem schmalen zylindrischen Ansatz (vgl. Fig. 2) versehen lassen, in dessen Durchbohrung die LASPYRESsche Lupe eingeschoben werden kann. Die Lupe selbst ist in Figur 3 dargestellt, und zwar trägt die Hälfte $a_1 b$ der doppelkreisförmigen Metallhülse diese Linse, die ihr kongruente Hälfte $a_2 b$ dient als Handhabe bei eingesteckter Lupe, enthält aber außerdem eine als Blende wirkende Höhlung und wird eingeschoben, wenn ohne Lupe beobachtet wird und kein Nebenlicht durch den Schlitz bei A eindringen darf.

Es ist zweckmäßig der LASPEYRESschen Lupe eine solche Brennweite zu verleihen, daß sie für Mikrophotographie ein wenig oberhalb des Innennikols Platz findet; ich benutze in diesem Fall zwei vertikale Stäbchen, auf denen die Lupe auf- und abgeschoben werden

kann, zu ihrer Befestigung. Diese Stäbchen sind in die Schiebehülse des Innennikols eingeschraubt und die Erweiterung der zur Aufnahme des Innennikols dienenden Tubusdurchbohrung gestattet es die Stellung der LASPEYRESschen Lupe bequem zu regulieren.

Der Kondensor kann vollkommen unabhängig von dem Polarisator bequem aus- und eingeschaltet werden, entsprechend einer kürzlich von TSCHERMAK an die petrographischen Mikroskope gestellten Forderung; und muß für unsere Zwecke um die Instrumentachse drehbar sein (vgl. Anmerk. 1); beide Möglichkeiten werden dadurch erreicht, daß der Kondensor ähnlich dem von TEN SIETHOFF[1] konstruierten in einer tellerförmigen Fassung sich befindet; diese paßt in eine an der Unterseite des Objekttisches angebrachte Ausbohrung und wird in ihr durch Klammern festgehalten, die genau so wie gewöhnliche Objektklammern beschaffen, aber zu ihnen entgegengesetzt gestellt sind, nämlich gegen die Unterseite des Objekttisches drücken (vgl. Fig. 4).[2]



3.

Die Drehung des Objekts ist in einer ähnlichen Weise wie früher (vgl. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 181) von mir beschrieben wurde, durch eine gleichzeitige Drehung der beiden Nikols ersetzt; da jedoch für die vorliegenden Zwecke ein möglichst großes Gesichtsfeld erwünscht ist, wurde nicht, wie damals ein auf den Mikroskoptubus aufsetzbarer Analysator, sondern ein „Innennikol" benutzt und drehbar gemacht, und zwar hierzu ober- und unterhalb des Innennikols J der Tubus parallel der Objekttischebene durchschnitten. Der so erhaltene drehbare Zylindermantel wurde durch die Klammer K mit der Stange S verbunden, welche auf dem drehbaren Ringe Z senkrecht steht[3] und anderseits den Polarisator P trägt.

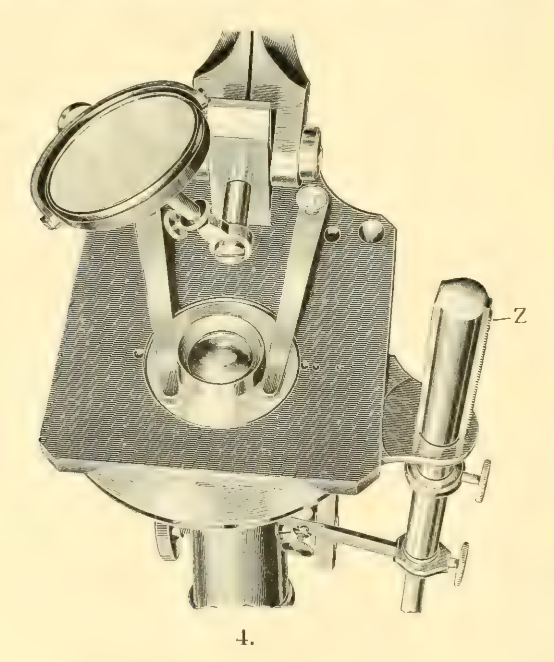
---

[1]) TEN SIETHOFF, Beitrag zur Kristalluntersuchung im konvergenten polarisierten Lichte (Zentralbl. f. Min. 1903, p. 657; Ref. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 109).

[2]) Der Polarisator ist in dieser Figur fortgelassen, um den gesamten Kondensor sichtbar zu machen, er würde bei Z in derselben Weise wie Figur 1 zeigt, anzufügen sein. Will man auch bei gesenktem Kondensor beobachten, so halte man ihn mit einem Ringel statt der Klammern fest, welcher mittels der Stange D (Fig. 1) auf- und abschiebbar ist.

[3]) Auf dem Ringe Z befindet sich eine Gradteilung, welche erstens den Teilkreis eines gewöhnlichen Objekttisches ersetzt (vgl. meine früheren Ausführungen in dieser Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 183), zweitens aber auch die mit dem Kondensor vorzunehmenden Drehungen zu messen gestattet.

Schließlich ist für die Ausmessung von Interferenzbildern ein Kreuzschlittentisch von Wichtigkeit; derselbe wird unentbehrlich, wenn die Achsenbilder, welche die beiden ungleich orientierten Partien eines Kristallzwillings aufweisen, miteinander verglichen werden sollen. Es kommt dieser Fall, in welchem eine Parallelverschiebung des Präparats ohne jegliche Drehung auszuführen ist, bei der optischen Untersuchung von Zwillingskristallen häufig vor, welche besonders



4.

zur Bestimmung der Feldspate und Pyroxene für die Petrographie von Wichtigkeit ist.

Die meisten Kreuzschlittentische würden nur derart an unserem Mikroskopmodell angebracht werden können, daß sie sich zugleich mit dem äußeren Ringe R drehen und daher für unseren Zweck nicht verwendbar sein. Denn eine Änderung in der gegenseitigen Stellung zwischen Polarisatoren und Präparat, auf die allein es uns

Letztere erfolgen um solche Beträge, daß die Mikrometerskala des Kondensors durch den jeweilig zu bestimmenden Punkt P hindurchgeht und so der bei Z ablesbare Drehungswinkel und der alsdann an der Mikrometerskala selbst sichtbare Centroabstand von P die anfangs erwähnten Polarkoordinaten dieses Punktes ergeben.

ankommt, würde durch die Anwendung eines solchen Kreuzschlittentisches unmöglich werden. Ein von R. Winkel (Göttingen) bereits früher ausgeführtes Modell eines Kreuzschlittens läßt sich jedoch ohne erhebliche Kosten unserem Zweck anpassen. Dieser Kreuzschlittentisch wird bei T und U an denjenigen Teil des festen (quadratischen) Objekttisches angeschraubt, welcher den Drehring R überragt; indem der Kreuzschlittentisch über diesen Drehring hinübergreift, bietet er dem Objekt eine bei jeder Drehung von R festbleibende Unterlage dar und kann durch Lösen der (nicht in der Figur dargestellten) Schrauben bei T und U momentan entfernt werden, sobald nur solche Beobachtungen angestellt werden, bei denen es auf eine vollkommen exakte Parallelführung des Präparats nicht ankommt.

Ein besonderer Vorteil der Methode, statt der Präparate die Polarisatoren zu drehen, besteht nun in unserem Falle in folgendem: Befindet sich der Kristall, dessen Achsenwinkel bestimmt werden soll, in einem Gesteinsschliff, aus welchem er nicht isoliert werden kann, so müssen die angrenzenden Partien abgeblendet werden, um nicht durch ihre eigenen Interferenzerscheinungen störend zu wirken, und man bediente sich hierzu bisher ausschließlich kreisförmiger Blenden. Da aber sehr kleine Kristalle meistens nadelförmig sind oder doch nur höchst selten ungefähre Kreisform besitzen, geht durch derartige Blenden viel von der erreichbaren Lichtstärke der Interferenzerscheinung verloren. In den meisten Fällen wären spaltförmige Blenden, die so gestellt werden, daß ihre Längsrichtung mit derjenigen übereinstimmt, welche die Kristallnadel darbietet, zweckmäßiger. Daß man dennoch solche Blenden bisher nicht verwandte, hat seinen Grund offenbar darin, daß bei einer geringen Drehung des Präparats die Längsrichtungen der Blendenöffnung und Kristallnadel sich bereits wechselseitig verdecken und bei solchen Stellungen eine kreisförmige Blende nahezu gleiches leistet. Wenn aber — wie bei dem hier beschriebenen Verfahren — die Interferenzbilder am festbleibenden Präparat durch gleichzeitige Drehung der gekreuzten Nikols geprüft werden, kann man ohne weiteres die größte Lichtstärke, welche mit der Spaltblende erreichbar ist, bei jeder Drehung ausnutzen, durch welche der Winkel zwischen der Längsrichtung des Präparates und den Nikolhauptschnitten geändert wird.

Für diesen Zweck habe ich eine an anderem Ort zu beschreibende Reguliervorrichtung des Spaltes konstruiert, welche ähnlich wie bei dem Spalt eines Spektralapparates die Breite der Lichtöffnung

zu verändern gestattet und auch die Länge des Spaltes zu variieren erlaubt. Letzteres ist notwendig, da bei zu großer Spaltlänge durch die neben dem Untersuchungsobjekt befindlichen Mineralien des Schliffs die eigentliche Interferenzerscheinung gestört werden könnte.

[Eingegangen am 2. August 1905.]

Der Leitzsche Universal-Projektions-Apparat.

Von

E. Arbeit
in Wetzlar.

Hierzu vier Holzschnitte.

Die Umstände, welche der vor mehr als 30 Jahren zuerst durch Joh. Czermak geübten Lehrmethode — Einführung der Projektionskunst in die medizinischen Wissenschaften, beziehungsweise in die Hörsäle überhaupt — im Laufe der Jahre mehr und mehr Anhänger zugeführt haben, sind vornehmlich in der Vervollkommnung der optischen Hilfsmittel, der bilderzeugenden Linsensysteme und noch mehr in der Verbesserung der verfügbaren Lichtquellen zu erblicken. Die Möglichkeit einer glücklichen Verwendung aller dieser Errungenschaften zeitigte nach und nach Apparatkonstruktionen, welche sich durch universale Verwertbarkeit auszeichneten, indem sie nicht nur für diaskopische, sondern gleichzeitig auch für episkopische Projektionen eingerichtet waren.

Die Bemühungen um Universal-Apparate solcher Art sind fast ebenso alt, wie die Projektionskunst selbst; die ersten Versuche wurden bereits vor einigen Jahrzehnten unter den Bezeichnungen „Wundercamera“ oder auch „Megaskop“ bekannt, sie konnten indessen nicht befriedigen, weil die projizierten Bilder die notwendige Helligkeit ganz vermissen ließen.

Wenn auch spätere Konstruktionen bei aller Gediegenheit der Ausführung und trotz Benutzung aller optischen und beleuchtungstechnischen Errungenschaften auch noch immer nicht voll befriedigen

konnten, so trug auch hier lediglich der in der ganzen Apparatanordnung begründete Lichtverlust die Schuld an dem nicht vollen Erfolge; überall nämlich war bisher die Anordnung eine derartige, daß gerade bei der episkopischen Projektion, wo es sich darum handelt, opake Gegenstände gewissermaßen „selbstleuchtend" zu machen, das Objekt von einem durch Reflexionen bereits geschwächten Lichte erleuchtet wird.

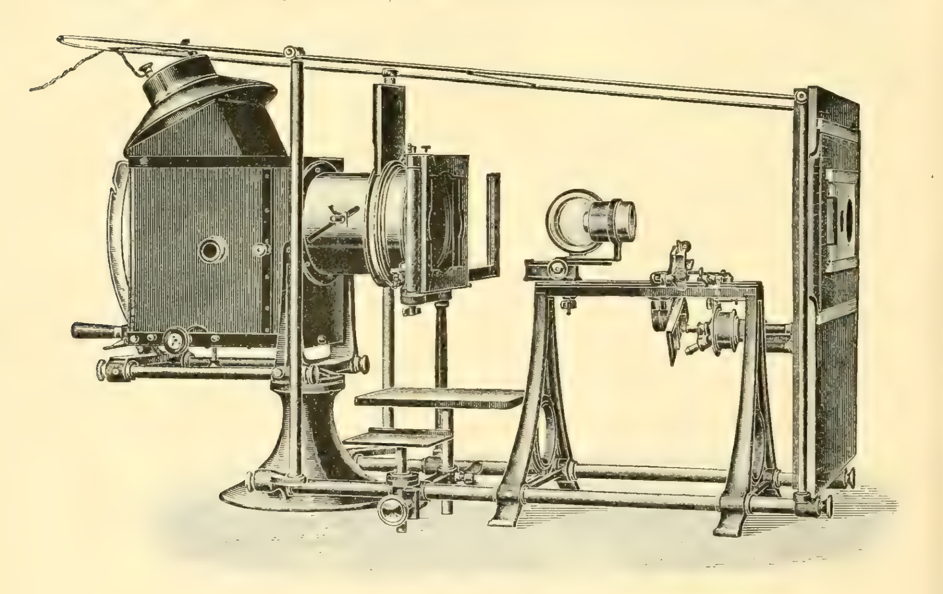
Wenn ich mich hier nicht einfach mit dem Hinweis darauf begnügen will, daß es der optischen Werkstätte E. Leitz-Wetzlar gelungen ist, ihren neuen Universal-Projektions-Apparat von einem solchen störenden Fehler so gut wie gänzlich zu befreien, so geschieht es in gerechter Würdigung eines neuen, hier bei dem Leitzschen Apparate durchgeführten Konstruktionsprinzipes, das abgesehen von dem tatsächlichen Nutzeffekt durch seine Einfachheit überraschen muß: „Beleuchtung des zu projizierenden Gegenstandes mit direktem, unreflektiertem Licht."

Es sei hier gleich vorweg genommen, daß der Schwerpunkt der Leitzschen Verbesserung in einer leicht und sicher funktionierenden Einrichtung liegt, mittels welcher die Lichtquelle aus der optischen Achse des Apparates gedreht werden kann, und zwar handelt es sich um eine horizontale Drehung in seitlicher Richtung und um eine Drehung in vertikaler Ebene; die Ausführung der ersten Bewegung ermöglicht direkte Beleuchtung seitlich befindlicher Gegenstände, während bei letzterer Anordnung undurchsichtige auf einem horizontalen Tische liegende Körper oder Illustrationen, Druck aus Büchern etc. direktes Licht erhalten; der erste Fall sieht also die Projektion von Körpern in ihrer seitlichen Ansicht vor, im andern Falle erscheinen die Körper von oben betrachtet.

Bevor die Anordnung der einzelnen Apparatteile und die verschiedenen Handgriffe besprochen werden, welche beim Übergang von einer bestimmten Projektionsart zu irgendeiner andern auszuführen sind, erscheinen zunächst einige Worte über die Hauptteile des Apparates angebracht.

Die Hauptteile des Apparates, Lichtquelle und optische Bank sind von einem Gestell umgeben, über welches ein Dunkeltuch gebreitet ist, um das Eindringen von störendem Lichte in den Projektionsraum zu verhindern. Als Lichtquelle dient eine sich automatisch regulierende Bogenlampe von 30 Amp. Stromstärke, welche in ein mit Asbest ausgelegtes Gehäuse eingebaut ist. Das an der Vorderseite des Gehäuses montierte Kondensorsystem hat einen Durchmesser

von 21 cm. Es besteht aus drei Sammellinsen, von denen zwei durch seitliche Griffe gegen die dritte verschoben werden können, um den Lichtkegel nach Bedarf regulieren zu können. Vor dem Kondensor sitzt auf einem seitlichen Arme drehbar montiert ein Kühlgefäß, welches auch gleichzeitig den Rahmen für Diapositive trägt. Auf der optischen Bank befindet sich ein Halter, der mit zwei rechtwinklig zueinander stehenden, drehbaren Armen versehen ist. Der eine Arm trägt das Objektiv von 400 mm Brennweite für episkopische Projektionen, der andere Arm ist zur Aufnahme von

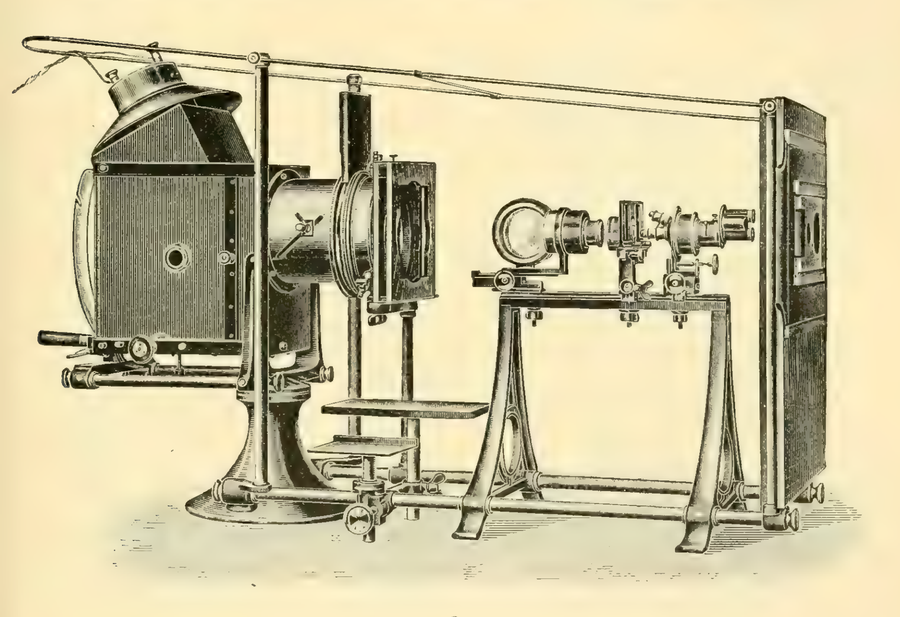


1.

Objektiven für diaskopische, beziehungsweise des Beleuchtungsapparates für mikroskopische Projektionen bestimmt. Auf der optischen Bank befindet sich ferner mittels eines Gelenkes zur Seite geschlagen der Tisch für mikroskopische Präparate, sowie davor in gleicher Stellung der die mikroskopischen Systeme tragende Tubusständer.

In dieser so kurz beschriebenen Stellung wird der Apparat durch Figur 1 veranschaulicht und ist so gebrauchsfertig für diaskopische Projektion. Zur Komplettierung dieser Ausrüstung gehört ein Wechselrahmen zur Aufnahme der Diapositive, sowie Einsätze zu den verschiedenen Plattengrößen, die dem Apparat beigegeben sind.

Beim Übergang von dieser einfachsten zur mikroskopischen Projektion sind nur einige kleine Handgriffe auszuführen: das Objektiv wird durch den mikroskopischen Beleuchtungsapparat ersetzt, die in Figur 1 auf der optischen Bank nach unten geklappten Teile, Präparattisch und Tubus mit den am Revolver sitzenden Objektiven, aufgerichtet, d. h. in die optische Achse des Apparates eingeschaltet und die Vorrichtung für die mikroskopische Projektion ist fertig.



2.

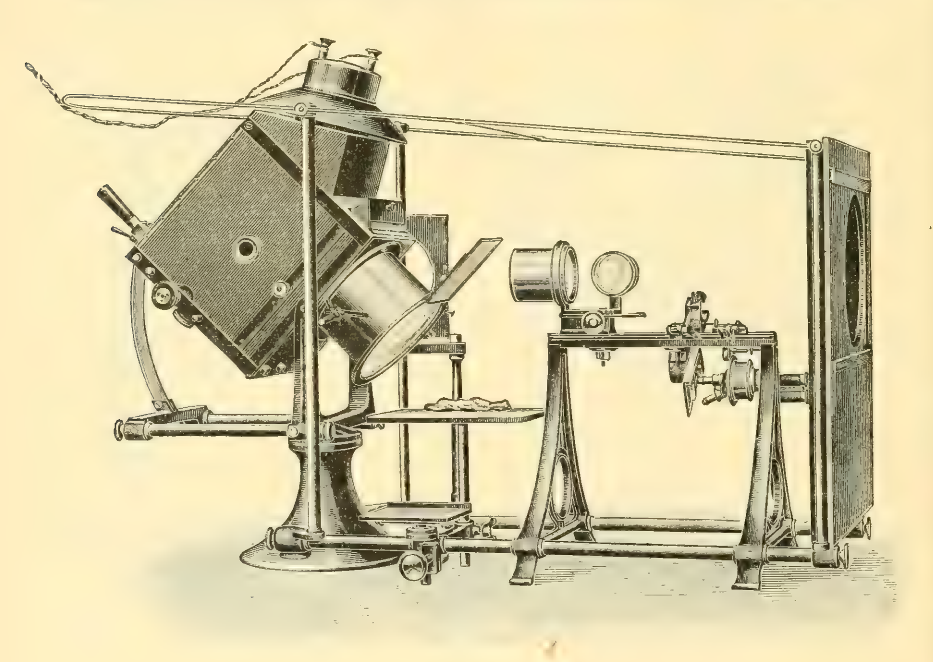
Zur Projektion werden die bekannten Leitzschen Mikroskop-Objektive bis No. 6 sowohl mit, als auch ohne Projektionsokulare verwendet.

Man sieht in Figur 2, welche den Apparat fertig für mikroskopische Projektion darstellt, die drei Projektionsokulare auf einer Revolvervorrichtung zusammengefaßt derartig, daß die drei Augenlinsen mit einer einzigen Kollektivlinse verwendet werden, wodurch ein besonders bequemer Wechsel der Okularvergrößerung ermöglicht wird.

Für die Projektion größerer Präparate bei schwacher Vergrößerung kommen noch besonders die Leitzschen Mikrosummare von 24, 35, 42 und 64 mm Brennweite in Betracht, eine Neu-

konstruktion, die mit dem Vorzuge einer sehr hohen Lichtstärke ausgezeichnete anastigmatische Bildfeldebnung weiter Ausdehnung verbinden.

Wendet man sich einer kurzen Betrachtung der Einrichtung für episkopische Projektion zu, so sind zunächst an Apparatteilen noch die beiden Tische zu erwähnen, die, verstellbar eingerichtet, zur Aufnahme der Objekte dienen. Als Kernpunkt der für episkopische



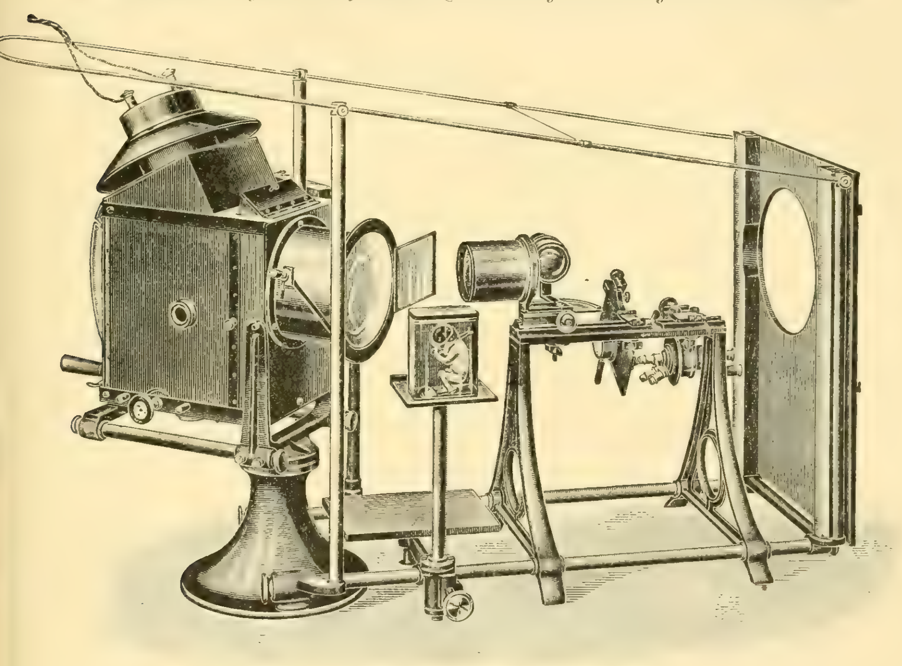
3.

Projektion getroffenen Einrichtung ist bereits vorher die drehbare Anordnung der Lichtquelle gekennzeichnet worden; die Stellung, beziehungsweise Anordnung der einzelnen Apparatteile für episkopische Projektion, zunächst mit Beleuchtung von oben, veranschaulicht Figur 3.

Um den Apparat für diese Projektionsart einzurichten, bedarf es der Ausführung folgender Handgriffe: der auf einem Arm drehbar montierte Kühler mit daran befindlichem Diapositivrahmen wird nach der Seite geschlagen, so daß der Kondensor frei wird und die Lampe an dem an der Hinterwand angebrachten Hebel so gehoben werden kann, daß Kondensor und der an ihm angebrachte Spiegel gegen den Objekttisch um 45° geneigt sind. Das Bild des durch den

Kondensor direkt beleuchteten Objektes wird nun von dem Spiegel aufgenommen.

Es ist jetzt nur noch nötig, auf der optischen Bank den Präparattisch und den Tubus mit den Mikroskopobjektiven aus der optischen Achse umzulegen in die schon aus Figur 1 ersichtliche Stellung, sowie durch Drehung des auf der optischen Bank ruhenden zweiarmigen Objektivträgers das große Projektionsobjektiv von 400 mm



4.

Brennweite in die optische Achse einzuschalten, so daß das von dem Spiegel aufgenommene Objektbild durch dieses Objektiv zur Projektion gelangt. Es muß an dieser Stelle noch besonders darauf hingewiesen werden, daß die Anforderungen, die hier an einigermaßen geeignetes Projektionsobjektiv gestellt werden, recht hohe sind, und daß für diese Art der Projektion nur solche Objektive verwendbar sind, welche Gegenstände von relativ sehr großer Ausdehnung eben d. h. frei von Bildwölbung wiederzugeben vermögen; das neue Leitzsche Projektionsobjektiv genügt bei höchster Lichtstärke dieser Forderung in hochvollendeter Weise.

Besondere Erwähnung verdient noch die von Leitz absichtlich getroffene Wahl der relativ großen Brennweite von 400 mm, um für episkopische Projektionen eine möglichst große Tiefe erzielen zu können, und in der Tat genügt das Leitzsche Projektionsobjektiv auch in dieser Hinsicht allen praktisch in Frage kommenden Ansprüchen.

Für episkopische Projektionen mit Beleuchtung von der Seite, wie sie unter gewissen Umständen anzuwenden ist, behält die optische Bank genau die gleiche Objektivstellung und Anordnung, nur die Stellung der Lichtquelle ist eine andere aus Figur 4 ersichtliche. Die Lampe wird wieder heruntergelassen, so daß sie die in Figur 1 veranschaulichte Stellung einnimmt, und dann durch Drehung auf einer darunter befindlichen horizontalen Drehscheibe in die aus Figur 4 ersichtliche Lage gebracht. Die zu projizierenden Gegenstände finden auf dem in die Höhe geschraubten vorderen Tische Platz, wo sie in dieser Stellung direktes Licht vom Kondensor erhalten. Um die Aufnahme dieser Gegenstände durch das Objektiv herbeizuführen, wird der am Kondensor angebrachte Spiegel um 90° gedreht, wie aus der Figur ersichtlich; der Spiegel bildet in dieser Lage mit der optischen Achse einen seitlichen Winkel von 45° und läßt so durch das Objektiv das Objekt zur Projektion gelangen.

Auf diese Art lassen sich nicht etwa nur die gerade auf den Tisch zu placierenden Gegenstände projizieren, es können so auch Körper zur Projektion gebracht werden, welche sich in der Richtung des direkten Lichtes daneben aufgestellt befinden, also z. B. ganz besonders Körperteile am Lebenden.

Es ist nicht Zweck dieser Ausführung, eine erschöpfende Beschreibung von der Einrichtung und der Vielseitigkeit, oder gar ausführliche Handhabungsvorschriften für den Leitzschen Universal-Projektions-Apparat zu geben, es sollten vielmehr hier nur in möglichst kurzen Worten die Vorzüge eines Apparates dargetan werden, der gerechtermaßen Anspruch auf das weitestgehende Interesse hat.

[Eingegangen am 11. Oktober 1905.]

Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie seit Zimmermanns „Botanischer Mikrotechnik“.

Sammelreferat

von

Dr. Oswald Richter
in Prag.

(Fortsetzung und Schluß.)

III. Abschnitt.

Zellmembran.

1. Zellulosemembran und die Membranen der niederen Organismen.

Man betrachtet sowohl in der Chemie wie in der Mikrochemie die glücklich erfolgte Kristallisation eines Stoffes als einen wichtigen Abschnitt in der Erkenntnis seiner Eigenschaften. Infolgedessen muß man Gilsons Arbeit über die Kristallisation der Zellulose und die chemische Zusammensetzung der vegetabilischen Zellmembran als ein Ereignis der Zellwandliteratur betrachten. Gilson ist es gelungen, durch Lösung und nachherige Fällung im Inneren der Zellen sphäritartige Kristalle von Zellulose zu erhalten. Als Lösungsmittel wurde Kupferoxydammoniak, zur Fällung Ammoniak verwendet. Große Kristallaggregate wurden mit 20- bis 23prozentigem Ammoniak erzielt; sie sind löslich in Kupferoxydammoniak, färbbar mit Kongorot und reagieren mit Chlorzinkjod. Die für die vorhandene Lösung bestehende Unmöglichkeit, durch die Mittellamelle zu diosmieren, läßt die Sphärite im Zellinneren entstehen, doch gelingt ihre Isolation nach Behandlung mit Salzsäure und Kalilauge oder Ammoniak.

Es gibt nach Gilson nur einen einheitlichen, in der Membran vorhandenen, mit Chlorzinkjod färbbaren Körper, die kristallisierbare Zellulose. Mit Ausnahme der Pilzmembranen, bei denen wir den

Grund des Mißlingens der Reaktion im Chitingehalte zu erblicken haben (vgl. Chitin), erhielt GILSON bei allen Membranen von Pflanzen Sphärite, desgleichen bei Tieren, z. B. aus dem Mantel einer Tunikate. JOHNSON bestätigte die Befunde GILSONS, wendete sich aber gegen den Ausdruck „Sphärite“ wegen des passiven optischen Verhaltens und schlug den Namen Kristallite vor, doch scheint sich derselbe nicht eingebürgert zu haben, vermutlich deshalb, weil es zweckmäßiger erscheint, das Kugelförmige der Gestalt als das optische Verhalten im Namen zum Ausdruck zu bringen. Auch LOVE beschäftigte sich mit diesem Gegenstande.

Die GILSONsche Methode gab später v. WISSELINGH bei seinen bekannten „Mikrochemischen Untersuchungen über die Zellwände der Fungi“ eine vorzügliche Kontrolle seiner Beobachtungen über Darstellung reiner Zelluloseskelette ab. v. WISSELINGH hatte nämlich gefunden, daß pflanzliche Zellhäute nach sechsstündigem Verweilen in auf 125^{0} erwärmtem in zugeschmolzenen Röhren befindlichen Wasser infolge der zersetzenden Wirkung desselben vollkommen reine Zelluloseskelette übrig lassen. Erzeugt man sich nun vor dem Kochen nach GILSON Zellulosesphärite, so bleiben in der Tat nach der sechsstündigen Einwirkung des Wassers nur diese Sphärite übrig. Erhitzung mit Glyzerin auf 300^{0} gibt dieselben Resultate nach kürzerer Zeit.

Das Wesentliche der GILSONschen Methode ist die Fällung der Zellulosesphärite durch Ammoniak aus ihrer Lösung in Kupferoxydammoniak. Behandelt man nun nach CORRENS Membranen von Caulerpa prolifera mit konzentrierter Schwefelsäure und dann mit Wasser, so entsteht auch ein Haufwerk von Sphäriten, die 100 bis 300 Prozent Wasser aufzunehmen vermögen, doppelbrechend sind wie Stärkekörner, von Jod und Schwefelsäure gelbbraun gelöst werden, in Chlorzinkjod gelbbraun verquellen, in konz. Essigsäure löslich sind und noch andere Eigentümlichkeiten zeigen, die sie von gewöhnlicher Zellulose unterscheiden und dadurch zu beweisen scheinen, daß die Membranen der Caulerpa nicht aus Zellulose im engeren Sinne bestehen. Eine chemische Analyse wurde nicht ausgeführt.

Reaktion und Färbung. MANGIN hat als das wichtigste Stadium der Membranumwandlung das der Bildung von Hydrozellulose oder Amyloid bezeichnet. Zu dessen Erzeugung sind Säuren ungeeignet, weil sie, verdünnt verwendet, das Ziel nicht erreichen, und konzentriert, darüber hinausschießen. Am geeignetsten ist eine gesättigte alkoholische Kali- oder Natronlauge. Nur auf so präpa-

rierte Zellulose wirken die gewöhnlichen Zellulosereagentien unverzüglich ein. Auch färben sich nur so vorbereitete Membranen mit MANGINS Azofarbstoffen. Es gibt übrigens eine ganze Anzahl von empfohlenen Membrantinktionen, die auf Farbstoffaufnahme durch Zellulose beruhen, vgl. BUSSE, ROULET, LEMAIRE, die immer wieder verwendeten Färbungen mit Kongorot und Hämatoxylin (SENN, JÄGER), und andere Färbeverfahren mehr. Um so beachtenswerter erscheint der Rat v. WISSELINGHS, auf Farbenreaktionen nicht zuviel Gewicht zu legen. Noch in einer früheren Arbeit war er geneigt, auf Grund des Verhaltens von Membranen gegen Farbstoffe zwei Körper als Begleiter der Zellulose anzunehmen, einen, der sich mit Methylen- und Brillantblau und einen, der sich mit Rutheniumrot färbt. Nun aber zeigte er, daß die Dichtigkeit des Objektes, also ein rein physikalischer Faktor (vgl. das Kapitel „KERN"), für die Farbstoffaufnahme von ausschlaggebender Bedeutung ist. Eine Baumwollfaser färbt sich mit Kongorot schwach, nach Behandlung mit Kupferoxydammoniak intensiv, und bedeutend zelluloseärmere Membranen können sich a priori besser färben. Noch sprechender scheint der Beweis, daß Zellulosesphärite von bei 300° in Glyzerin gereinigter Zellulose sich mit Rutheniumrot nicht färben, es aber tun, wenn man sie vor dem Eintragen in den Farbstoff einer Vorbehandlung mit verdünnter Chromsäure unterzieht. Jedenfalls wird man danach Ansichten, wie die CHALONS, wonach Methylenblau ein typischer Zellulosefarbstoff sein soll, entsprechend vorsichtig aufnehmen müssen. Ob LOVE auch nur Farbstoffreaktionen empfiehlt, und ob CUTOLOS „New test for cellulose" auch bloß auf einer Farbstoffreaktion beruht, bin ich leider nicht in der Lage mitzuteilen, da mir weder die Originale noch Referate über diese zur Verfügung standen. Es sind somit auch FITTINGS Befunde hinsichtlich der Farbstoffe Kongorot, Benzoazurin, Rutheniumrot, Methylenblau und Safranin bloß als Kontrollergebnisse seiner mit Chlorcalciumjod und Kupferoxydammoniak erhaltenen zu betrachten. Man vergleiche auch die Angaben LAGERHEIMS über die Verwendbarkeit von Brillantblau zum Zellulosenachweis und die von PORSCH über die von essigsaurem Anilinblau zu gleichen Zwecken. – Die beste Chlorzinkjodlösung als Reagens auf Zellulose ist nach v. WISSELINGH eine mit 60prozentigem Chlorzink.

Eine gesonderte Besprechung verdienen die auf der Metallspeicherung bezw. der Imbibitionsfähigkeit für Metallsalzlösungen beruhenden Färbemethoden. CORRENS hat nachgewiesen, daß sich die von His-

Recklingshausen für tierhistologische Zwecke empfohlene Versilberungsmethode auch auf die Pflanzenmembran anwenden lasse, um deren feinere Struktur zu zeigen. Als sehr geeignet erwies sich eine 2prozentige Silbernitrat- und eine 0·75prozentige Kochsalzlösung und Übertragen in Wasser mit darauf folgender Exposition. Je mehr Silbernitrat eine Membranpartie aufgenommen hatte, desto mehr Chlorsilber mußte sich bilden, desto dunkler mußte also die Membranpartie werden. Es ist dies ein ganz ausgezeichnetes Mittel, Streifung und Schichtung zum Ausdruck zu bringen. An Stelle von Silbernitrat und Kochsalz kann man auch eine 10prozentige Lösung von gelbem Blutlaugensalz und verdünntes Eisenchlorid verwenden. Um dieselbe Zeit fallen Molischs Erfahrungen mit „maskiertem Eisen", die das enorme Speicherungsvermögen auch von Membranen besonders für Eisensalze nachwiesen (s. o.). Devaux hat neuerdings diese Versuche aufgenommen, erweitert, und den Beweis geliefert, daß die Fähigkeit der Eisensalzspeicherung der Zellulose ohne Vorbehandlung mit Laugen vollkommen abgehe, während Pektinstoffe sie in hervorragender Weise besitzen; das steht auch im Einklang mit den Erfahrungen von Meyer, der darauf aufmerksam gemacht hat, daß reinste Baumwolle die selbst in reinster Kalilauge des Handels vorhandenen Spuren von Eisen speichert und diese so nachweisbar macht. Desgleichen decken sich seine Beobachtungen mit denen von Molisch.

In einer neueren Arbeit hat sich Devaux besonders mit dem Metallspeicherungsvermögen von mit Eau de Javelle vorbehandelten Membranen beschäftigt und begründet geradezu auf dem Vermögen der Zellulose, vornehmlich Kaliumbichromat aufzunehmen, sein Dreifarbenverfahren. — Die von v. Tompa empfohlene Goldtinktion ist analog dem Corrensschen Silberverfahren ausgearbeitet und beruht auf der Reduktionsfähigkeit von Zinnchlorür auf Goldlösung. Nach Lundie bleibt die Zelluloseschicht der Fucusmembran beim Silberverfahren farblos; zwischen ihr und der Gallertschicht aber entsteht ein dunkler Ring.

Fälle des Ausbleibens der Reaktionen, ihre Gründe und Beispiele abnormen Auftretens derselben. Schon Grüttler bemerkt, daß in den Epidermiszellen und den Schleimhaaren von Lythrarien die Zellulosereaktion nie direkt, sondern bei jenen z. B. erst nach Vorbehandlung mit Eau de Javelle gelingt. In der neueren Zeit häufen sich die Fälle, wo auf reaktionshindernde Körper und auf Zelluloseumwandlungen aufmerksam gemacht wird. Tischler zeigt, daß die Zellulosebalken im Embryosack von Pedicularis im Alter vermutlich aus Pektin bestehen, Czapek, daß „Sphagnol" und „Dicranumgerbsäure" bei Moosen reaktionshindernd wirken, Mangin.

daß Mucorineenzellulose sich erst nach Vorbehandlung mit Salzsäure und Kalilauge in SCHWEIZERschem Reagens löst. ROTHERT, daß die homogenen Hüllen der Kristalle bei Pontederiaceen keine echte Zellulose sind etc.

Bekannt ist das Ausbleiben der Zellulosereaktion bei verholzten Elementen. Kaliumpermanganat läßt nun nach MÄULE durch Zerstörung des reaktionshemmenden „Hadromals“ die reine Zellulose zutage treten. Analog ist nach YENDO Zellulosereaktion bei den Wänden des Geniculums der Corallineen möglich, wenn die Gelose durch Lösung entfernt worden ist. Weiteres siehe bei Besprechung der Grün-, Blau- und Braunalgen.

Eine besondere Behandlung erheischen noch die Ergebnisse des Reaktionswandels bei von Parasiten befallenen Pflanzen in der Umgebung der Erkrankungsstelle und die in den Zellen und Zellwänden der Parasiten. So hat HEINRICHER darauf aufmerksam gemacht, daß nur die Mittellamelle der Membran des Schwellgewebes in den Kapselklappen von Lathraea clandestina Zellulosereaktion liefert, die quellbaren Membranschichten aber nicht, was an HANSENs Befund bei Gracilaria erinnert. W. MAGNUS weist Zellulosebildung in den von der Mykorrhiza befallenen Zellen von Neottia Nidus avis nach. Behandelt man nämlich die aus Pilz- und Wirtspflanzenplasmaresten gebildeten „Klumpen“ durch 24 Stunden mit Eau de Javelle und unterzieht sie nachher der Zelluloseprobe mit Chlorzinkjod, so tritt deutliche Reaktion auf. Nach Entfernung der Zellulose mit Kupferoxydammoniak kann man mit Safranin noch Pektinstoffe nachweisen. Nach NAWASCHIN bemerkt man in den Zellen der von Plasmodiophora Brassicae befallenen Pflanzen feine Lamellen, die die Zellulosereaktion geben. CZAPEK konnte feststellen, daß durch die Lebenstätigkeit des Merulius lacrymans, des Pleurotus pulmonarius und anderer Pilze das „Hadromal“ frei und dadurch die Zellulose des Holzes nachweisbar wird, die nun die Zellulosereaktionen zu liefern vermag. Man vgl. auch das einschlägige Kapitel aus LAFARS „Technischer Mykologie“.

Auch tierische Parasiten scheinen dieses Umwandlungsvermögen zu besitzen. Bekanntlich geben Vaucherienmembranen die Zellulosereaktion im Alter nicht (vgl. Membran der Grünalgen). Wird aber eine Vaucheria von der Rotatorie Notommata Werneckii befallen, so wird nach ROTHERT ihre Membran in der Umgebung des Parasiten so verändert, daß die „Kalotte“ mit Jodjodkalium und Schwefelsäure stark rotviolett, dann trüb-blau wird. Nachher tritt Entfärbung auf, doch kann Bläuung durch verdünnte Schwefelsäure wieder hervorgerufen werden.

Weiterhin sei noch einiger abnormer Vorkommen der Zellulose gedacht. Eines hat SCHÜTT bei der Diatomee Cyclotella socialis beobachtet. Es strahlen nämlich von der Membran dieser Alge eigenartige Büschel von Fäden aus, die SCHÜTT schließlich als kieselfreie Zellulosemodifikation erkannte. Übrigens hält auch JAHN die von ihm bei Myxomyceten beschriebenen Diktydinkörner für Zellulose (vgl. neue Stoffe). WEBER VAN BOSSE hat schon viel früher stärkeähnliche Körner bei der neuentdeckten Phyllosiphonee Phytophysa Treubii beobachtet, seine „grains de cellulose“, die wirklich Zellulosereaktionen gegeben haben, und ZALEWSKI erbrachte den Beweis, daß die halbkugelförmigen Gebilde mit sphäritartigem Aussehen, die SCHÖNNETT „Resinocysten“ genannt hat, aus einem Zellulosegerüste bestehen.

dessen Kammern mit Harzsubstanz erfüllt sind. KOLKWITZ schließlich hat gefunden, daß die Zellulinkörner des Abwasserpilzes sich mit Kongorot intensiv färben, was auf einen zelluloseähnlichen Stoff schließen ließe.

Schließlich seien noch einige Rezepte mitgeteilt, die sich auf die Deutlichmachung der CASPARYschen Streifen beziehen. KRÖMER empfiehlt Phlorogluzin-Salzsäure, Chlorzinkjod, Chlorcalciumjod, Sudanglyzerin, konzentrierte Schwefelsäure, Chromsäure und Kalilauge, RUMPF MÄULES Reaktion, Anilinhydrochlorat, Chloralphenol, Hämalaun, Jodjodkalium, Methylgrünessigsäure, Anilin-, Methyl-, Spritblau, Jodgrün-Fuchsin. Rutheniumrot läßt unter gleichzeitiger Färbung der Zellulose die CASPARYschen Streifen farblos.

Der Zellulose verwandte Körper.

GILSON fand, daß es außer der kristallisierbaren Zellulose noch andere Stoffe gibt, die ihr offenbar chemisch sehr nahe stehen: Das Paramannan der Kaffeebohnen, das mit Zellulose die Mannoso-Zellulose SCHULZEs liefert. Es ist auch in verdünnter Schwefelsäure löslich; und die Hemizellulose, womit er alles das bezeichnet, was in der Membran vorhanden, sich aber nicht mit Chlorzinkjod violett färbt. Später hat sich SCHELLENBERG mit der Hemizellulose beschäftigt.

Namenlos ist der von CORRENS bei Siphoneen entdeckte Körper geblieben (vgl. Zellulose).

Auch das „Fucin“ von WISSELINGHs scheint mit der Zellulose nahe verwandt zu sein. „Fucin“ ist ein Membranstoff der Braunalgen, der schon nach Vorbehandlung der Membranen mit bloß einprozentiger Schwefelsäure mit Jod die typische intensive Bläuung gibt.

GRÜSS unterscheidet nach der leichteren oder schwereren Hydrolysierung und Löslichkeit bei der Reservezellulose der Dattelkerne drei Bestandteile: 1) Galaktan und die Hydrolysierungsstufen: 2) α-Mannan und 3) β-Mannan, beide gehen über verschiedene Manninstufen in Mannose über. Auch die Zwischenstufen, die durch Jod-Phosphorsäure unterschieden werden, erhalten Namen: Leuko- und Cyanomannin.

In neuester Zeit hat LEMAIRE bei seinen Blaualgenstudien (vgl. diese) das von CORRENS studierte Scytonemin untersucht, einen Körper von Zellulosereaktion, der die Oscillarienmembran imprägniert und vor der eigentlichen Zelluloseprobe erst entfernt werden muß. Schizophykose nennt er endlich, eine alkalisch reagierende, mit Rutheniumrot sich nicht färbende Substanz und Schizophycin, ein durch Laugen erzeugtes Abspaltungsprodukt der Schizophykose.

Membran der Algen.

1) Peridineen. Unterwirft man, wie SCHÜTT, dem wir ungemein wertvolle Mitteilungen über Peridineen verdanken, gezeigt hat, die Peridineen Ornithocercus quadratus und O. Steinii, der Zelluloseprobe, so bemerkt

man, daß die Membranleisten die Violettfärbung mit Chlorzinkjod nicht geben, daß auch die sonstigen Jodreaktionen zunächst unterbleiben, sich aber nach Vorbehandlung mit Säuren oder Laugen dennoch zeigen. Es scheint also ein die Reaktion verdeckender, in Säuren ausziehbarer Stoff in diesen Membranleisten vorhanden zu sein.

2) Diatomeen. Bei seinen eingehenden Studien der Diatomeen fand BENECKE nach Entfernung des Zellinhaltes durch Eau de Javelle und Alkohol Nelkenöl, Kanadabalsam oder Styrax, bezw. alkoholische Methylviolettlösung und Nelkenöl zur Untersuchung der Membran ganz ausgezeichnet geeignet.

3) Grünalgen. Nach SENN gibt Dictyosphaerium pulchellum keine Reaktion auf Zellulose, nach DEBSKI unterbleibt sie auch im großen und ganzen bei Characeen und Siphoneen, was übrigens auch schon GÖPPERT und COHN festgestellt haben und was auch mit den CORRENSschen Befunden harmonieren würde. Nur bei den jüngsten Sproßspitzen kann man von Zellulosereaktion sprechen, bei den alten versagt jedes Zellulosereagens, da aber auch die charakteristischen Pektinstofffärbungen nicht eintreten, glaubt DEBSKI an einen neuen Körper in der Characeen- und Siphoneenmembran. SCHMIDLE findet, daß sich die Haare und Membranhöcker der Alge Conochaete Klebahnii mit Chlorzinkjod nicht färben, dagegen speichern sie Hämatoxylin. Gerade umgekehrt verhalten sich die Haare von Aphanochaete pilosissima. Bei Desmidiaceen ist endlich nach LÜTKEMÜLLER Fuchsin, Methylviolett, Bismarckbraun und nachträgliches Zuleiten von essigsaurem Kali anzuraten, wenn man den Porenapparat besonders deutlich machen will. Zum Schluß sei erwähnt, daß SENN zum Studium der Membran von koloniebildenden einzelligen Algen Kongorot verwendet, nachdem er durch Natronlauge Quellung und Lösung der Gallertschichte erzielt hat.

4) Blaualgen. Was die chemische Zusammensetzung der Membran dieser Algengruppe anlangt, so scheint wesentlich für die Beurteilung der Entwicklungszustand, in dem sich gerade die Alge bezw. deren Zellen befinden. HEGLER zeigt z. B., daß die Heterocystenwände Zellulosereaktion geben, was von BRAND bestritten wird, die Wände der reifen Sporen dagegen hält er für verkorkt (vgl. Kork). In den Zellmembranen und Scheiden kann er endlich auch Gehalt von Chitin nachweisen (vgl. Chitin), auf das er auch die Anisotropie der stark doppelbrechenden Membranen zurückführt. — Von LEMAIRES Angaben über die Cyanophyceenscheiden war oben die Rede. — Nach MACALLUM löst Pikrinsäure die Membranscheiden und Querwände der Cyanophyceen. Zum Schlusse sei noch bemerkt, daß CORRENS mit Hilfe von Karbolfuchsin nach Vorbehandlung mit Pepsin-Glyzerin-Salzsäure, Chromsäure und 2prozentiger Kalilauge ein rotes Netz auf farblosem Grunde innerhalb der Membran hat darstellen können, das er dahin interpretiert, daß das Gefärbte die dickere Membran, das Farblose aber Tüpfel mit Gallertausscheidung gewesen sind.

5) Rotalgen. Vornehmlich bei den Corallineen macht sich bei der Membranuntersuchung der hohe Kalkgehalt unangenehm bemerkbar; YENDO macht Angaben über dessen rasche Entfernung.

Auf eine eigenartige Reaktion der Membran von Gracilaria hat HANSEN aufmerksam gemacht. Es färbte sich hier nämlich die Mittelschichte (Inter-

zellularsubstanz) mit Jodjodkalium schön karminrot, mit Jod in Seewasser violett. Jod und Schwefelsäure färben dagegen die ganze Membran violett. (Über Sphaerococcus vgl. den folgenden Abschnitt.)

6) Braunalgen. WILLE zeigte, daß die Laminariamembran aus einer dem Zellinhalte zugekehrten Zellulose- und aus einer vorzüglich Calciumpektat (vgl. Pektinstoffe) enthaltenden Mittellamelle besteht, aus der durch Säuren das Calcium gelöst werden kann, worauf in Sodalösung Mazeration eintritt. v. WISSELINGH fand bei Fucus vesiculosus und Sphaerococcus crispus neben Zellulose noch einen Stoff, der durch einprozentige Schwefelsäure und Jodjodkalium gebläut wird, der sich bei 300° löst, und den er „Fucin" nennt. Der Sitz des Stoffes ist vornehmlich die gequollene Mittellamelle. Interessant ist die Tatsache, daß man bei Fucinblaufärbung zeigenden Membranen mit 76prozentiger Schwefelsäure die Jodfärbung gerade umzukehren vermag. Was blau war, wird weiß (Fucinmittellamelle), was weiß war, wird blau (Zelluloselamelle): Die Konzentration der verwendeten Säure ist also ausschlaggebend für den Ausfall der Reaktion.

SCHRÖDER empfiehlt zur Deutlichmachung der Algengallerthüllen Tusche und die von BÜTSCHLI empfohlene Sepia, zur Färbung KLEBS' und HAUPTFLEISCHs Anilinwasser-Safranin, Dahlia, Karbolfuchsin und Neutralrot.

Membran der Pilze und Bakterien.

1) Pilze. GILSON findet, daß die Membranen von Claviceps purpurea und Agaricus campestris frei sind von Zellulose und an ihrer Stelle eine stickstoffhaltige Verbindung besitzen, die beim Zusammenschmelzen mit Kalihydrat eine als Mykosin bezeichnete Substanz liefert, welche mit Säuren echte kristallisierte Salze gibt. Das Mykosin ist eine amorphe, mehr oder weniger hornartige Masse, die in der Pilzmembran nicht in freiem Zustande vorkommt. Es färbt sich, und das sei besonders hervorgehoben, mit Jodjodkalium, das eine Spur Säure enthält, rosaviolett. Die gleiche Färbung liefert Jod und Schwefelsäure und durch viel Wasser verdünntes Chlorzinkjod. Daraus dürften sich auch die so widersprechenden Angaben der verschiedenen Autoren über die Zellulosereaktion der Pilzmembran erklären.

v. WISSELINGHs „Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi" stellen einen Markstein in der Erkenntnis der chemischen Zusammensetzung der Pilzmembran dar, indem sie die von GILSON angenommene, in ihrer chemischen Natur aber noch nicht erfaßte N-haltige Muttersubstanz des Mykosins als Chitin erkannte und damit der Forschung wieder ein weites Arbeitsgebiet erschloß. Danach lautet der betreffende Erkenntnissatz: „Es gibt Pilze mit Chitinmembranen." Doch ist die Verallgemeinerung: „die Membran der Pilze bestehe aus Chitin" durchaus unstatthaft, wie eine Reihe von Arbeiten zeigen, die der v. WISSELINGHschen rasch nacheinander gefolgt sind. So beobachtete JAHN bei den jungen Kapillitiumfasern von Comatricha obtusata Preuß, wie dies schon DE BARY für Stemonitis gezeigt hat, Zellulosereaktion mit Jod und Schwefelsäure, doch nur oben, während sie beim Stielansatze unterblieb. Nach Bräunung des Kapillitium geht die Reaktion unter keiner Bedingung mehr.

Ebenso mißlang die Chitinprobe. MANGIN bringt den Beweis vom Vorhandensein von Zellulose, Kallose und Pektinstoffen bei Mucorineen. Die vegetativen Hyphen bestehen aus Zellulose und Pektinstoffen, Sitz der Zellulose innen, die Fruchthyphen haben in den Sporangien außerdem in späterem Alter Kallose innen und ersetzen die Zellulose durch Kalkablagerungen, die Membran der endogenen Sporen reagiert nach Vorbehandlung mit Kalilauge und Salzsäure deutlich auf Kallose. VUILLEMIN kann an den Zygosporen der Mukorineen sogar fünf Schichten unterscheiden je nach deren Verhalten gegen Jod und Schwefelsäure und Hämatoxylin. Für Hefe Schizosaccharomyces octosporus hat LINDNER den Nachweis erbracht, daß sich deren Sporenmembranen mit Jod allein bläuen. Ab und zu färben sich auch die Membranen der Sporenmutterzellen. Dieser Befund schließt sich an analoge von SORDARIA bei Disco- und Pyrenomyceten und von HOFFMANN bei Dematiumzellwänden; KINDERMANNS Befund bei Stereum sanguinolentum zeigt, daß sogar beim selben Pilze die verschiedenen Hyphen verschieden chitinhaltig sein, bezw. reaktionshindernde Stoffe enthalten können, wodurch ganz instruktive differente Färbungen erzielt werden.

2) Bakterien. Die Untersuchungen über die Membransubstanz der Bakterien haben neuerdings gezeigt, daß neben Zellulose auch N-haltige Stoffe, im besonderen Chitin, vorkommen (EMMERLING, IWANOFF). Doch ist ein abschließendes Urteil über die Frage zurzeit noch nicht zu geben, da die Meinungen der Autoren zu weit auseinander gehen. — Nach HINZE färben sich die Membranen von Beggiatoa mirabilis mit Rutheniumrot, Safranin und Methylenblau, was auf Pektingehalt deutet. Chlorzinkjod und Chloralhydrat spalten die Membranen in zwei Teile. Später wies HINZE auch bei Thiophysa volutans Pektinstoffe nach.

Weiterhin sei des Farblosbleibens von Bakterienmembranen gedacht, das MATRUCHOT bei seinen Vitalfärbungen von farblosen durch Farbstoffbakterien zu beobachten Gelegenheit hatte. (Vgl. auch LAFARS technische Mykologie und CZAPEKS Biochemie.)

Membran der Moose.

Schon RUGE hatte konstatiert, daß die mechanischen Zellelemente der Moose erst nach der Behandlung mit Kalilauge Zellulosereaktionen geben, daß sie mit Kalilauge vergilben und daß ein gerbstoffartiger Körper in ihnen vorkommt. Nach GJOKIĆS Untersuchungen sind Moosmembranen unverholzt, und zwar gelingen die Jodreaktionen auf Zellulose bei Lebermoosen sofort, bei Laubmoosen erst nach Vorbehandlung mit Chromsäure oder SCHULZEscher Mischung. Mit Rutheniumsesquichlorür geben alle Membranen die MANGINsche Pektinprobe. Abgesehen von den kürzeren Notizen von KRASSER, CORRENS und KAMERLING haben erst wieder durch CZAPEK die Moose, im besonderen ihre Membranen, eine eingehende Behandlung erfahren, wobei zunächst die früheren Forschungsergebnisse bezüglich Unterbleiben und Auftreten der Zellulosereaktionen und der Gerbstoffprobe bestätigt werden konnten. Auch die Gelbfärbung mit Natronlauge wurde von CZAPEK beobachtet und festgestellt, daß mit Mooszellhäuten auch MILLONS Reaktion gelingt. Diese mit MILLON reagierende Substanz ist isolierbar,

ist phenolartig und erhielt den Namen „Sphagnol". Auch die gerbstoffartige ist darstellbar und wurde „Dicranumgerbsäure" genannt. Sphagnol dürfte in der Membran als Sphagnolzelluloseäther vorkommen. Mit starker Natronlauge erhält man aus Sphagnum auch „Pektinsubstanz". Die Dicranumgerbsäure dürfte in chlorartiger Bindung vorliegen. Protonemata sind stets sphagnol- und gerbstoffsäurefrei, sie geben daher immer die Zellulosereaktion.

Endlich sei der Befunde SCHAARS gedacht, wonach sich die Verdickungsschichten der Antheridien mit Jodtinktur gelb färben und mit Jod und Schwefelsäure zunächst gelbbraun, später erst blau werden. Bei der Mittellamelle tritt die Reaktion früher ein und wird die Bläuung dunkler. Schwefelsäure löst die ganze Zellwand. SCHAAR deutet die Ergebnisse seiner Untersuchungen auf Schleim.

2. Die verholzten Membranen.

Chemie. Im Mittelpunkte des Interesses steht bei der Behandlung der Verholzung pflanzlicher Zellmembranen die Frage, welcher Körper die Ursache der bekannten Farbenreaktionen mit Anilinsulfat und Phloroglucin-Salzsäure sein mag. Man sieht, wie sie sich immer weiter zuspitzt zur Formulierung der folgenden Frage: „Ist das Vanillin die Ursache dieser Reaktionen oder nicht?" und man kann sehen, wie in der Literatur ein energischer Kampf entbrennt, den SINGER 1882 mit seiner Vermutung, der hypothetische Körper sei Vanillin, eröffnet und den nach heftigen Wogen des Kampfes GRAFE 1904 anscheinend endgültig zugunsten SINGERS beendet hat. Während auf der einen Seite HEGLER 1890 SINGERS Anschauungen unterstützte, griff sie NICKEL, der in SELIWANOFF einen Bundesgenossen erhielt, mit aller Energie an.

In eine neue Phase trat der Streit nach zehnjähriger Pause, während welcher die entscheidende Frage nur gelegentlich gestreift wurde (vgl. CORRENS und SCHELLENBERG), durch das Erscheinen der Arbeiten CZAPEKS „Über die sogenannten Ligninreaktionen des Holzes" und MÄULES „Das Verhalten verholzter Membranen gegen Kaliumpermanganat, eine Holzreaktion neuer Art". Nach einer eingehenden Kritik der bisherigen Methoden des Ligninnachweises, welche wiederum die Phloroglucin-Salzsäureprobe als beste anerkennen muß, geht CZAPEK zu der Besprechung seiner Versuche über Reindarstellung des Holzstoffes über, den er mit Zinnchlorür extrahierte. Der erhaltene Körper roch sehr stark, ähnlich, aber nicht ganz so wie Vanillin und reagierte außerordentlich empfindlich mit Phloroglucin-

Salzsäure. Czapek gab ihm den Namen „Hadromal“. Der Name hängt mit Haberlandts „Hadrom“ zusammen. Obwohl es Czapek „in einzelnen Versuchen gelungen ist, ganz geringe Mengen farbloser nadelförmiger Kristalle des Körpers zu erhalten, so lieferten dennoch sämtliche Darstellungen im größeren Maßstabe bisher keine tadellosen Produkte“. Trotz dieser Mängel der isolierten Substanz, wird, obwohl sie zweifellos als Aldehyd erkannt und das Vorhandensein von Vanillin nicht ausgeschlossen war, die Möglichkeit einer Identität derselben mit Vanillin auf Grund der „Gelbfärbung mit Alkalien, dem starken Reduktionsvermögen gegenüber ammoniakalischer Silberlösung, der braunvioletten Eisenreaktion und der abweichend nuancierten Ligninreaktion und den abweichenden Geruch“, bestritten. Schon wiederholt ist ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß man beim Nachweis organischer Stoffe durch Farbenreaktionen auf unendlich viele Nuancen einer Reaktion gefaßt sein muß, weil man ja mit unendlich vielen Zufälligkeiten, zufällig vorhandenen unkontrollierbaren Substanzen rechnen muß, die die Reaktion verändern können. Es kann daher die Nuance der Ligninreaktion ebensowenig wie der „abweichende“ Geruch die Möglichkeit der Singerschen Auffassung zurückweisen. Ich komme später noch auf die neuesten von Grafe in dieser Richtung angeführten, schlagenden Beweise zurück.

So schien denn durch Czapeks Untersuchungen über das „Hadromal“ das Vanillin aus seiner hypothetischen Rolle vollkommen verdrängt, und man mußte nun an die Hypothese vom „Hadromal“ auch noch eine von der Bindung desselben mit der Zellulose anfügen. Der Paarling des Hadromals soll nach Czapek Zellulose sein und mit dem neuen Körper einen Hadromal-Zelluloseäther bilden. Doch soll in sehr geringen Mengen Hadromal auch frei in der Membran vorkommen.

Mäule hat nun eine neue Reaktion angegeben, die im wesentlichen darauf beruht, daß Holz, dessen Reaktionsträger — nennen wir ihn vorläufig mit Czapek Hadromal — zerstört ist, — mit Ammoniak noch eine tiefrote Reaktion zu liefern vermag. Der Vorgang dabei ist der folgende: Man behandelt die Holzmembranen zunächst mit Kaliumpermanganat, dadurch werden sie braun, danach überträgt man sie in Salzsäure, — sie werden farblos, darauf in Ammoniak, — es tritt eine tiefrote Farbe ein. Dabei vermeide man eine zulange Einwirkung des Kaliumpermanganats, da sonst der Zellulosecharakter der Membran entsteht und die Färbung unterbleibt.

Dieser Ausfall der Reaktion gestattet die Annahme, daß derselben ein Zersetzungsprodukt des „Hadromals“ oder irgendein anderer Körper zugrunde liegt, der aber jedenfalls ein ständiger Begleiter verholzter Substanz zu sein scheint, da er auch in Bastbündeln vorkommt, die WIESNERS Probe wenig oder gar nicht geben. Dem „Hadromal“ könne somit die verholzende Wirkung keineswegs zugeschrieben werden. Merkwürdigerweise sind gerade die Gymnospermen für die neue Reaktion ungeeignet.

Die wichtigen Resultate, die CZAPEK und MÄULE erzielt hatten, lassen es selbstverständlich erscheinen, daß nun das „Hadromal“ und „MÄULES Reaktion“ im Mittelpunkt des Interesses standen. Das Vanillin schien für eine Zeitlang vergessen.

GÉNEAU DE LAMARLIÈRE überprüfte zunächst, inwieweit die Faktoren der MÄULEschen Holzstoffreaktion durch andere ersetzbar sind, und fand: 1) Das Kaliumpermanganat ist zur Reaktion nicht notwendig, doch ist unerläßlich die Anwendung eines Oxydationsmittels. Das Kaliumpermanganat kann somit ersetzt werden durch Salpetersäure, und man erhält bei weiterer Behandlung nach MÄULE Gelbfärbung; Kaliumhypochlorid und Kalilauge erzeugen Gelbfärbung, einprozentige Chromsäure ruft Rötung hervor. HOFMEISTERS Flüssigkeit ist besonders empfehlenswert: bei größeren Mengen von Chlor entsteht Rotfärbung. Bei Gymnospermen und Gefäßkryptogamen erzielt man nur mit dieser Flüssigkeit (gesättigtes Chlorkalium und verdünnte Salzsäure) MÄULES Reaktion.

2) MÄULES Salzsäure kann durch andere Säuren ersetzt werden, doch ist sie am geeignetsten.

3) MÄULES Ammoniak ist ersetzbar durch andere Alkalien.

4) Alle Gewebe, die WIESNERS Phloroglucinprobe geben, geben MÄULES Probe auch, ein Resultat, durch das er sich mit MÄULE selbst in Widerspruch setzt, und mit dem auch FABERS sofort zu besprechende Befunde nicht ganz stimmen, das aber die Tatsache für sich hat, mit bedeutend verfeinerten Methoden gefunden zu sein.

5) Je stärker die Oxydation, desto stärker die MÄULEsche, desto schwächer aber die WIESNERsche Probe.

In dem Grade also, in dem der Träger der MÄULEschen Probe auftritt, verschwindet der der WIESNERschen, und Förderer dieses Vorgangs ist der Sauerstoff, daher wird nach GÉNEAU die Permanganatreaktion durch ein „Ligninoxyd“ bedingt.

6) Die Färbung von verholzten Membranen mit Anilinfarbstoffen, im besondern mit Jodgrün, erfolgt noch, wenn die MÄULEsche Reaktion

bereits versagt, wenn also Lignin und Ligninoxyd entfernt sind, hat also mit der Verholzung gar nichts zu tun. Géneau de Lamarlière vermutet, daß dieser Reaktion die Stickstoffverbindungen des Holzes zugrunde liegen (man vgl. auch Allens Bemerkung, nach der in jugendlichen Holzmembranen die Pektinstoffe in reinster Form vorhanden sein sollen).

7) Die Xylanprobe mit Orceïn-Salzsäure ist auf „Vanillin" zurückzuführen. Géneau hat später auch einen Aldehyd in dicken Kutikulahäuten entdeckt, der „Schiffs Probe" gibt und schon wegen seines Vorkommens Hadromal nicht sein kann.

Faber konzentrierte seine Aufmerksamkeit auf jene Fälle, wo Wiesners Probe nicht, Mäules dagegen gut gelingt und umgekehrt. Es muß hervorgehoben werden, daß er nur die Mäulesche Versuchsanordnung benutzte, nicht die verfeinerten Methoden von Géneau. — Beispiele für Färbung nach Wiesner und Farblosbleiben nach Mäule sind Hydathoden von Anamirta Cocculus, Bastfasern von Boehmeria platyphylla, Beispiele für das entgegengesetzte Verhalten Sklerenchymfasern von Anamirta Cocculus. Mit Géneau müßten wir uns diese Beobachtungen von Faber in der Weise erklären, daß eben in dem einen Falle Lignin, im andern Falle sein Oxyd vorlag.

Wie wir gesehen haben, hat Géneau auf den alten Ausdruck Lignin zurückgegriffen, vielleicht, um zu zeigen, wie wenig sich mit den beiden Hypothesen vom Vanillin und Hadromal als Träger der Wiesnerschen Probe erklären ließ, und dem „Vanillin" war bloß ein Platz für die Bertrandsche Xylanprobe eingeräumt worden. Faber schließt mit der Meinung, die Holzstofffrage sei eigentlich erst wieder aufgerollt und nicht, wie man meinte, gelöst. Inzwischen hatte Wiesner einen Chemiker angeregt, mit den neuen Erfahrungen ausgerüstet, sich der Holzuntersuchung zu widmen und besonders das Czapeksche Isolierungsverfahren genauer zu studieren.

Sind nun zwar die Resultate der Arbeit Grafes meist rein chemischer Natur, so ist diese Arbeit doch wegen ihrer allseits befriedigenden Antworten, die sie auf die Fülle von Fragen über Wiesners und Mäules Probe, welche sich beim Verfolg der beiden so wichtigen Holzstoffreaktionen aufdrängen, gibt, von solcher Bedeutung, daß sie auch hier eine eingehende Würdigung finden muß.

Das nach Czapeks Verfahren dargestellte Hadromal erwies sich für weitere Analysen, im besonderen zur Gewinnung kristallisierender Substanzen als unzureichend. Den geeignetsten Weg gab erstens die

Untersuchung der Sulfitablauge und zweitens die hydrolytische Spaltung und Erhitzung in Vakuumröhren auf 180°.

Das Resultat dieser Untersuchungen war die Reindarstellung:

1) von Vanillin $C_8 H_8 O_3$ (Schmelzpunkt bei 80°).

2) von Brenzkatechin $C_6 H_6 O_2$ (Schmelzpunkt bei 103 und 104° — wird mit Eisenchlorid dunkelgrün).

3) von 2 bis 5 Methylfurfurol $C_6 H_6 O_2$ (Schmelzpunkt bei 108°).

Bekannt war bereits das Vorhandensein von Koniferin im Holze. Nur das Vanillin gab von den drei neu dargestellten Produkten eine Rotfärbung mit Phloroglucin und Salzsäure, es erscheint somit nur dieses als Träger der Wiesnerschen Holzstoffreaktion. Ebenso ist es aber auch die Ursache der violetten Nuance der Koniferinprobe, indem bei starker Oxydation, z. B. mit Kaliumchlorat aus Koniferin etwas Vanillin abgespalten wird, das die bekannte blauviolette Farbe erzeugt. Damit erscheinen Czapeks diesbezügliche Befunde erklärt. Koniferin allein färbt in kleinen Mengen mit Phenol-Salzsäure und chlorsaurem Kali blauviolett. Koniferin und Brenzkatechin liefern unter gleichen Umständen eine grasgrüne Färbung; die Gelbgrünfärbung des Holzes mit Salzsäure, beziehungsweise die haltbare Grünfärbung mit Bromwasserstoff hat ihre Ursache in der Wirkung von Koniferin und Methylfurfurol. Von großer Bedeutung sind auch Grafes Bemerkungen über den Wert von Nuancen bei Farbenreaktionen und seine Warnung, allzuviel auf die oft bemerkten Farbenverschiedenheiten zu geben. Man kann nach seinen Erfahrungen nach der Reaktion in der Eprouvette nicht sofort auf den Farbenton im Schnitte schließen, um so weniger als alle Versuchsbedingungen im Präparate unbekannt erscheinen. Will man genau vergleichbare Farben erhalten, so muß man Baumwolle mit Vanillin, Methylfurfurol, Brenzkatechin tränken, mit Salzsäure versetzen und am Wasserbade zur Trockene eindampfen.

Die Tatsache, daß das mittels Alkohol aus dem Holze ausgezogene Harz in ganz ausgezeichneter Weise Wiesners Rotfärbung zeigt, veranlaßte Grafe die Reindarstellung der Farbstoff liefernden Substanz auch von dieser Seite her zu beginnen. Diesbezügliche weitere Mitteilungen stehen noch bevor.

Auf die Frage, woher die oben genannten drei Verbindungen stammen, lautet nach Grafe die Antwort: Vermutlich aus der Zellulose des Holzes, wenigstens ist dies für Methylfurfurol durch Fenton und Gostling sehr wahrscheinlich gemacht, die fanden, daß aus Zellulose 33 Prozent dieses Körpers gewonnen werden

können. Über die beiden andern Substanzen sind Untersuchungen noch im Gange.

Es ist natürlich noch von großem Interesse, wie GRAFE sich zu MÄULES Reaktion stellt, nachdem er den Träger der WIESNERschen rein dargestellt hat. GRAFE erklärt den Vorgang bei MÄULES Reaktion ganz ähnlich wie GÉNEAU. Das Permanganat ist ein Oxydationsmittel. Proportional zur fortschreitenden Oxydation muß WIESNERS Probe schwächer werden, um bei vollendeter Oxydation vollkommen auszubleiben, während die Rotfärbung mit Ammoniak besser erfolgen muß entsprechend der größeren Menge mit Ammoniak sich rötender Substanz.

Wenn nun Vanillin der Träger der WIESNERschen Probe ist, dann muß man auch mit ihm dieselben Erscheinungen hervorrufen können. Auch das gelang. Vanillin nach MÄULE behandelt, liefert purpurrote Farben, Koniferin ebenso, Methylfurfurol braunrote und Brenzkatechin bleibt farblos. Auch in dieser Frage hat GRAFE noch nicht das letzte Wort gesprochen. Und man kann nur wünschen, daß er noch recht zahlreiche Abhandlungen wie seine letzte dem Holzstoffthema widmen möchte.

Gehen wir auf GÉNEAUS Erklärung der MÄULEschen Reaktion zurück, so können wir sie jetzt, wie folgt, formulieren. Behandelt man vanillinhaltige Präparate mit Oxydationsmitteln irgendwelcher Art, so bilden sich Vanillinoxydationsprodukte, die die Eigentümlichkeit haben, sich mit Ammoniak purpurrot zu färben. Ist alles Vanillin oxydiert, dann kann natürlich WIESNERS Probe mit Phlorogluzin-Salzsäure, die vor der Oxydation prachtvoll gelang, nicht mehr eintreten.

Betrachten wir CZAPEKS Hadromal mit den neuen Erfahrungen, so erweist es sich trotz der großen Bemühungen, es absolut rein zu erhalten, noch als Gemenge der drei von GRAFE rein dargestellten Substanzen, wobei es natürlich von jeder etwas zeigt, vgl. die Aldehydnatur, den eigentümlichen Geruch nach Vanillin und die gewissen Farbennuancen.

Blicken wir endlich zurück auf den Beginn der Vanillin-Holzstoffrage, so hat sich doch SINGERS Vermutung als berechtigt herausgestellt und lautet also nach dem heutigen Stande der Dinge die Antwort in unserer Frage: Die beste Reaktion auf Holzsubstanz ist WIESNERS Probe mit Phlorogluzin-Salzsäure und ihr Träger ist das Vanillin.

Dieses Kapitel war soweit abgeschlossen, als mir V. GRAFES neue Publikation „Eine neue Reihe von Holzreaktionen“ in die Hände kam.

Er findet, daß primäre Alkohole mit der Gruppe $(CH_3)_2=CH$ im Vereine mit Schwefelsäure vom spec. Gew. 1·84 mit Vanillin oder Holzextrakt eine dunkelrote Färbung mit stark blauem Stiche liefern.

Rezept: „30 cm³ Isobutylalkohol werden mit 15 cm³ Schwefelsäure der genannten Konzentration vorsichtig unter Kühlen in fließendem Wasser überschichtet und nach und nach durchgeschüttelt. Die Mischung färbt sich hellrot bis dunkelrot, und es entwickelt sich Schwefeldioxyd (am Geruch erkennbar). Setzt man von dieser Mischung einige Tropfen zu einer Spur Holzmehl, so wird dasselbe schwärzlich (offenbar infolge der Schwefelsäurewirkung). Verdünnt man aber mit wenig Alkohol und schüttelt die Eprouvette, so zeigen die an der Wand anhaftenden Holzteilchen eine schöne blaue bis blaugrüne Farbe, in der Flüssigkeit erscheint genau das Rotviolett, welches man erzeugen kann, wenn man dieselbe Probe mit Vanillinlösung vornimmt." Schnitte färben sich wie das Reagens deutlich violett, nach weniger als einstündigem Liegen im Reagens in Glyzerin übertragen, werden aber die verholzten Gewebe alsbald blau. Nuancen nach grün und rotviolett glaubt GRAFE auf die Verholzungsintensität zurückführen zu müssen. — Auch der Amyl- und Hexylalkohol zeigt diese Reaktion. Die Färbung ist 6 Tage haltbar.

Nicht geben die Probe Kaffee- und Ferulasäure, die mit WIESNERS Reagens nach CZAPEK reagieren. — Außer Holz zeigen sie Vanillin und dessen Verwandte. Aliphatische Aldehyde: Isobutylaldehyd analog wie oben Isobutylalkohol verwendet, stellt mit Schwefelsäure auch wieder ein Holzreagens vor. Beim Übertragen in Glyzerin tritt weinrote bis rotviolette Farbe ein. — Einschlägige Versuche mit aliphatischen Aminen werden noch eingeleitet werden.

Die Färbung ist auch bei starken Vergrößerungen sichtbar.

Mikrochemisches Verhalten. Von den vorgeschlagenen Holzstoffreaktionen haben sich, wie bekannt, stets die beiden WIESNERschen mit Anilinsulfat und Phoroglucin am geeignetsten erwiesen.

Da nun, wie SINGERS und HEGLERS Untersuchungen dargetan hatten, anscheinend Vanillin einen konstanten Begleiter des Holzes bilden mochte, konnte dieses auch für eine mögliche Ursache der Rotfärbung von verholzter Substanz mit MILLONS Reagens gelten. CORRENS glaubte, diese Farbenreaktion wenigstens bei Begoniakollenchym auf Gerbstoff, bei Bromeliaceen auf Tyrosin zurückführen zu müssen, auch soll Vanillin nicht allgemein im Holze verbreitet sein. Auf die verholzten Zellmembranen hat später auch W. ELLRAM bei seiner Arbeit „Über den mikrochemischen Nachweis von Nitraten in Pflanzen" Bezug genommen. SCHELLENBERG will die Gelbfärbung des Holzes durch Chlorzinkjod aus der Zahl der Holzstoffreagentien ausgeschieden wissen. Er stimmt mit ZIMMERMANN in der Bedeutung der Phloroglucin-Salzsäure-Probe überein, die er für das empfindlichste Holzreagens erklärt. Freilich ließe sich nicht beweisen, ob alles, was

diese Probe gäbe, auch wirklich verholzt sei. Der Begriff der Verholzung sei noch unklar. Auch Wundsekrete und Harze färbten sich mit Phloroglucin-Salzsäure (vgl. diesbezüglich auch H. MOLISCH und die folg. Erörterungen über Wundgummi). Weitere „Beiträge zur Untersuchung der verholzten Membran" sind von ZETZSCHE geliefert worden. WIELER fand, daß die Membranen und Verstopfungen der von JOST beschriebenen Luftpneumathoden die Phloroglucin-Salzsäure-Probe liefern. Bezüglich der Zweifel der Deutung vgl. das oben Gesagte.

Färbung. Wie bekannt, wird Fuchsin zur Holzfärbung sehr empfohlen. Nach HEINRICHER soll Holzgummi deren Ursache sein. Nach ROULET ist auch konzentrierte alkoholische Cyaninlösung mit 5prozentiger ammoniakalischer Kongorotlösung für schöne Doppelfärbungen von Holz- und Zellulosegewebe sehr gut geeignet. Bei dieser Versuchsanstellung wird Zellulose rot, Holz blau, wieder ein Beispiel dafür, wie wenig man auf die Farbstoffe als Mittel zur Erkennung chemischer Substanzen geben darf. Eine neue Doppelfärbung für Gewächse mit teilweise verholztem Gewebe verdanken wir HERMANN PFEIFFER. Sie hat den Vorzug der Haltbarkeit und beruht auf der Verwendung von Hämalaun und Naphthylamingelb. Als Entwässerungsmethode wird die von UNNA angegeben. Die Farbenverteilung stellt sich dabei wie folgt: Holz gelb; unverholzte Teile violett. Rezept vgl. im Original.

Eine weitere Methode zur Herstellung haltbarer Holzfärbungen rührt her von ARCANGELI, nach dessen Versuchen eine 0·5prozentige Methylgrün- und eine 5prozentige Fuchsinlösung, beide im Verhältnis 4 : 1 verwendet, sehr gute Resultate liefern sollen. CHALON verweist auf Neutralrot, auf Croceïn in saurer, Kongorot in alkoholischer Lösung zur Holzfärbung. In wässriger Lösung ist Kongorot nicht verwendbar. Rutheniumrot färbt Holz nicht. In späteren Arbeiten berichtet er von seinen Erfahrungen mit Farbstoffen vor und nach der Behandlung mit Eau de Javelle und über zweckmäßige Doppelfärbungen mit Preußisch-Blau-Safranin und Anilinblau-Magentarot.

Nach LAGERHEIM färbt sich bei Anwendung des von ihm angegebenen Farbstoffgemisches Sudan III-Brillantblau-Chloranilin das Holz blau; Fettviolett, Fettgrün, Fettrot färben Kork, Kutikula und Holz.

DEVAUX hat sich, wie schon wiederholt erwähnt, mit dem auf Metallspeicherung beruhenden Färbeverfahren beschäftigt. Nach seinen Erfahrungen speichert Holzsubstanz Metall nicht. Erst Vorbehandlung mit Eau de Javelle befähigt sie dazu. Dann aber ist

dieses Speicherungsvermögen auch staunenswert. Eisen und Kupfer werden unter diesen Bedingungen noch im Verhältnis 1:10·000·000 aufgenommen.

Heinricher fand bei den Lathraea-Arten zwischen Saugfortsatz und dem Gewebe der Wirtswurzeln gelbliche Massen liegen, die sich als Reste verflüssigter, verholzter Membran erwiesen und besonders mit Wiesners Phloroglucin-Salzsäure intensiv reagierten, so daß es den Anschein hatte, als ob hier eine Anreicherung der färbbaren Substanz stattgefunden hätte. 25prozentige Chromsäure vermag diese gelblichen Massen zu entfernen, während Schwefelsäure sie ohne Verquellung verkohlt.

Bei seinen Studien über Hadromal machte Czapek die interessante Beobachtung, daß von Merulius lacrymans befallene Hölzer mit Alkohol viel mehr „Hadromal“ zu liefern vermögen als pilzfreie. Diese Eigentümlichkeit der chemischen Veränderung ist dem Merulius lacrimans nicht allein eigen, auch Pleurotus pulmonarius liefert die Hadromalprobe fördernde Extrakte. Czapek führt diese Wirkung auf ein Enzym zurück, dem er den Namen „Hadromase“ gibt. Diese Befunde stimmen mit früheren von Hartig gut überein, der vom Verschwinden des die Holzstoffprobe liefernden Körpers unter der Einwirkung des Holzschwammes berichtete. Auch durch Kulturen im Brautschrank konnte er diesen Befund erhärten. Angeregt durch Czapek, beschäftigte sich Marpmann mit dem Leben, Natur und Nachweis des Hausschwammes und ähnlicher Pilze unter Anwendung biologischer und mikroskopisch-mikrochemischer Methoden, von denen er sich nach berechtigter Kritik der in der Pharmaz. Zentralhalle 1901 Nr. 3 angegebenen mikrochemischen Erkennungsmethoden endgültig für die biologischen entscheidet. Eine neuere Arbeit auf diesem Gebiete hat Schorsten zum Verfasser. Man vgl. auch Tubeufs Untersuchungen mit holzzerstörenden Pilzen.

Koniferin. Höhnel hat bekanntlich die von Tiemanns und Haarmanns empfohlene Phenolsalzsäureprobe auf Koniferin mit Rücksicht auf Hartigs Entdeckung des Stoffes im Holze der Koniferen, für mikrochemisch-botanische Zwecke ausgenutzt. Molisch beschrieb später in einer 20prozentigen alkoholischen Thymollösung, die mit chlorsaurem Kali versetzt war, ein weiteres vorzügliches Koniferinreagens. Da sowohl nach Höhnel wie nach Molisch die Reaktionen mit verholzten Membranen gelangen, stand man nicht an, um so mehr als schon makrochemische Analysen es wahrscheinlich machten, den Holzzellen Koniferingehalt zuzuschreiben. Auch Hegler war von der angegebenen Verbreitung des Koniferins überzeugt. Czapek hat sich nun in seiner früher zitierten Arbeit gegen diese allgemein verbreitete Anschauung gewendet. Es sind abermals Farbenverschiedenheiten, auf die er sich dabei stützt. Indem ich nun noch auf das im Kapitel Chemie der verholzten Zellmembranen Gesagte verweise, wo jedesmal an passender Stelle des Koniferins gedacht ist, hebe ich nur noch Grafes Arbeit hervor, welche durch makrochemische Analysen auch den Konferingehalt des Holzes zweifellos macht und die Czapekschen Befunde in der geeigneten Weise richtig stellt bezw. erklärt. — Kristallisation. Bisher gelang es leider noch nicht, das Koniferin innerhalb der Zelle zur

Kristallisation zu bringen, doch sind unschwer aus einer wässrigen reinen Koniferinlösung mikroskopische Kristalle zu erhalten. Daß es aus Holzzellenextrakt nach makrochemischen Methoden zur Kristallisation gebracht wurde, habe ich bereits erwähnt.

3. Die Kutikula und die verkorkten Membranen.

Chemie. Auf Grund der Untersuchungen von Höhnel und Gilson war die Auffassung von der nahen Verwandtschaft der Kutikula und der verkorkten Membranen so gang und gäbe geworden, daß man die Ausdrücke „kutinisiert" und „kutikularisiert" überhaupt für überflüssig ansah und das Wort „Kutikula" bloß behufs leichterer topographischer Bestimmung beibehielt. Daß nun aber doch entgegen der herrschenden Anschauung auch wesentliche chemische Unterschiede bestehen, gelang v. Wisselingh zu zeigen, der für acht verschiedene Gewächse die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Kutikula auf mikrochemischem Wege festzustellen suchte. Als Reaktionen benutzte er dieselben, die er seinerzeit beim Studium der Verkorkung anwandte. Die sich ergebenden Zersetzungsprodukte der Kutikula wurden namentlich auf Phellonsäure geprüft, wobei natürlich in erster Linie die Violettfärbung durch Chlorzinkjod in Betracht kam. Das Ergebnis dieser Untersuchungen lautet: Zwischen Kutikula und Suberinlamelle gibt es zwar Übereinstimmungen (beide sind frei von Zellulose und beide enthalten teilweise verflüssigbare Substanzen), doch bestehen so erhebliche Verschiedenheiten zwischen ihnen, daß ein Durcheinanderwerfen beider unzulässig ist, denn der Kutikula fehlt die in der Suberinlamelle stets vorhandene Phellonsäure und sie widersteht der Kalilauge besser, ob diese nun in Wasser, Alkohol oder Glyzerin gelöst erscheint. Man wird daher nicht nur die alten Worte, weil glücklich gewählt, wieder herausholen müssen, sondern auch mit v. Wisselingh noch neue zu bilden haben, um diesen einschneidenden Unterschieden gerecht zu werden. So nennt er die aus der Kutikula isolierten Säuren: „Acides cutogéniques". Es sei auch erwähnt, daß die Kutikularschichten weniger widerstandsfähig sind als die Kutikula.

Eine weitere chemische Charakterisierung erfuhr diese in der allerjüngsten Zeit durch Géneau de Lamarlière, der verschieden dicke Kutikulae miteinander verglich, besonders im Verhalten gegen Schiffs Reagens (Fuchsin, entfärbt mittels schwefeliger Säure) und dabei noch die Wirkungen von Jod, Sudan III und andern Stoffen mit zum

Vergleiche heranzog. Es zeigte sich, daß starke Kutikulae einen reaktionshindernden Stoff enthalten. Die Reaktion bedingt vermutlich ein Aldehydstoff, der auch die TOLLENSsche und PASTEURsche Probe liefert.

Dieses Verhalten kutikularisierter Membranen gegen Fuchsin ist nur ein Beispiel von den vielen Möglichkeiten, die Kutikula und verkorkte Membranen durch Farbstoffe zu differenzieren.

Färbung. Abgesehen von dem von CORRENS angegebenen Chlorophyllfarbstoff kann man die von den verschiedenen Forschern zur Färbung empfohlenen Farbstoffe unterscheiden, 1) in solche, die von Fett aufgenommen werden, 2) solche, die man gewöhnlich zur Differenzierung von Plasma und Kern benutzt, und 3) pektinfärbende.

ZIMMERMANN wurde zur Verwertung von Alkannin und Cyanin für Korkfärbung vornehmlich durch den Gedanken veranlaßt, daß das Suberin oder Kutin als Fett eben ein analoges Speicherungsvermögen für diese Farbstoffe besitzen müsse, und seither haben sich die Angaben über neue Korkreagentien, d. h. neu verwendete Farbstoffe außerordentlich vermehrt.

I. Fettfarbstoffe als Korkreagentien:

1) Prodigiosin, den Farbstoff des Bac. prodigiosus und andere Bakterienfarbstoffe, z. B. den des Bakt. kiliense, empfiehlt ROSENBERG.

2) Sudan III, eingeführt in die botanische Mikrochemie von BUSCALIONI, empfohlen von KROEMER und für Doppelfärbungen mit Brillantblau und Chloranilin von LAGERHEIM.

3) Scharlach R. eingeführt von MACHAËLIS, empfohlen von LAGERHEIM, KROEMER und RUMPF.

4) Fettblau, Buttergelb, MEYERS Gelb, zum ersten Male verwendet von LAGERHEIM.

5) A. MEYERS Dimethylparaphenylendiamin und α-Naphtol in einprozentiger Sodalösung, eingeführt von RUMPF.

II. Plasma- und Kernfarbstoffe als Korkreagentien.

1) Neutralrot, verwendet von CHALON.

2) Mit Ammoniak entfärbte konzentrierte Lösungen von Gentianaviolett, Dahlia und Methylgrün nach Vorbehandlung der Objekte mit Eau de Javelle und Eintragen in 5—10prozentige Salz-, Schwefel- oder Salpetersäure empfiehlt TISON. Dabei werden die Korkmembranen violett.

3) Essigsaures Anilinblau, eingeführt von PORSCH.

4) Fuchsin, empfohlen von DARBISHIRE.

5) „ entfärbt durch schwefelige Säure (SCHIFFS Reagens), eingeführt von L. GÉNEAU DE LAMARLIÈRE.

III. Pektinfarbstoffe.

1) MANGINS Säuregrün } beide empfohlen von TISON. Versuchs-
2) Pariser Violett } anstellung wie in II. 2).

DEVAUX teilt mit, daß sich Kutin und Suberin bei seiner auf Metallspeicherung basierenden Methode der Färbung nicht färben lassen, da ihnen das Vermögen der Metallspeicherung abgeht. —

Überblicken wir den letzten Abschnitt, so zeigt er uns nicht weniger als dreierlei, anderweitig häufig verwendete Farbstoffe im Dienste des Suberinnachweises und mahnt uns damit zur entsprechenden Vorsicht bezüglich der Schlüsse, die man aus Farbstoffspeicherungen ziehen darf. So scheint es mir jedenfalls unzulässig, aus der bei reifen Sporen von Phycochromaceen gelungenen Färbung nach GRAM auf deren Suberingehalt zu schließen.

Man wird daher beim mikrochemischen Nachweise außer den Färbungen, die ja gewiß bezüglich Deutlichmachung ganz hervorragende Vorteile bieten, schließlich und endlich doch noch v. HÖHNELS Verseifungsprobe durchführen. KROEMER empfiehlt vor deren Ausführung Mazeration mit Eau de Javelle, die bei der genauen Feststellung der Verkorkung ausgezeichnete Dienste leisten soll.

Verwertung der Reaktionen. Zunächst machten es die im Vorhergehenden erwähnten verfeinerten Methoden des Suberinnachweises möglich, einen Irrtum zu berichtigen, der sich in diesem Gebiete eingeschlichen hatte. MATTIROLO und BUSCALIONI hatten nämlich behauptet, daß bei den Samenschalen der Papilionaceen die Kutikula chemisch mit der doppelten Auskleidung der Interzellularen übereinstimme. SCHIPS konnte zeigen, daß wohl zwei Begrenzungsschichten der Interzellularen vorkommen, daß aber die median gelegene unter keinen Umständen als Kutikula gedeutet werden könne, löse sie sich ja doch schon in Eau de Javelle. Derselbe beobachtete in Fruchtepidermen von Rohdea japonica eigenartige Kutikularbildungen, die in Form von mehr oder minder rechteckig gestalteten Lamellen mit abgerundeten Ecken zwischen die Wände der Zellen eingelagert sind. WIELER weist bei den Zellmembranen und bei den Verstopfungen der Interzellularen in Luftpneumathoden typische Verkorkung nach, KROEMER hat Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis der angiospermen Wurzel untersucht. Neue dem Suberin verwandte Körper fand v. WISSELINGH bei Umbelliferen. So zeigte er, daß die die großen und kleinen Kammern der in den Umbelliferenfrüchten enthaltenen Ölgänge umkleidende Membran aus einer mit Suberin oder Kutin nahe verwandten Substanz besteht, auch in den den Ölgängen zugekehrten Epithelzellen findet sie sich zum Teil neben Zellulose. v. WISSELINGH nennt sie Vittin. Bei Astrantia major sind die Ölgänge von korkartigen Zellschichten umgeben, aus denen sich aber Phellonsäure nicht isolieren läßt.

4. Gallerte, Gummi, Schleim.

Gallerte. — Im allgemeinen sind heute noch KLEBS', HAUPTFLEISCHS und ERRERAS Untersuchungsmethoden der Gallerte maßgebend. So hat

CORRENS zum Studium des Wachstums der Gallertblasen von Apiocystis Brauniana Naeg. behufs „Verdickung“ die von KLEBS angegebene Fütterung mit Glykose und Pepton versucht, doch ohne den gewünschten Erfolg; SENN verwendet Natronlauge zur Quellung der Gallertschichte koloniebildender einzelliger Algen.

Wie bekannt, sind Safranin und Methylenblau zum Färben der Gallertscheiden von Oszillarien beliebt. Daß Pektinstoffe der Grund dieser leichten Färbbarkeit sein könnten, hat aber erst HEGLER ausgesprochen und durch die Rutheniumrotprobe nachzuweisen gesucht. Von SCHRÖDERS Arbeit war schon oben die Rede.

Es wurde früher schon auf die von KLEBS beobachtete Fähigkeit der Gallertscheiden aufmerksam gemacht, auf Fütterung mit Glykose und Pepton durch Verdickung zu reagieren. CLAUTRIAU kommt nun auf Grund seiner Untersuchungen zum Schlusse, die gallertartigen Membranen der Braun- und Rotalgen wären bei der Kohlehydratspeicherung mit beteiligt.

Daß übrigens Bakterienmembrangallerten in hohem Grade gewisse Stoffe zu speichern vermögen, ist schon von MOLISCH für Eisenbakterien in bezug auf Mangan festgestellt und in jüngster Zeit von ADLER für den gleichen Stoff bei dem Protozoon Anthophysa vegetans bestätigt worden. Es verbreitert sich im ferrum mangano citricum die zentrale Zone des Stieles der Anthophysa-Kolonie etwa um das Dreifache.

Gelose. Mit der Algengelose hatte sich zunächst noch MANGIN zu beschäftigen, als er seine bekannten Reaktionen der Pektinstoffe zu beschreiben gedachte. Er fand, daß sie sich ebenso wie diese mit seinen Farbstoffen färbte, meint aber, daß eine Verwechslung wegen aller andern charakteristischen Eigenschaften ausgeschlossen sei. — Daß Gelose auch im Geniculum von Corallineen vorkommt, ist später von YENDO gezeigt worden.

Gummi. Man wußte bisher, daß das chemische Verhalten der Gummiarten ein auffallend verschiedenes ist. Die einen bläuen sich schon mit Jod allein, andere erst mit Jod und Schwefelsäure oder Chlorzinkjod, wieder andere werden durch Jodpräparate gelb und noch andere färben sich überhaupt nicht, ähnlich verschieden ist ihr Verhalten gegen Kupferoxydammoniak. Diese merkwürdige Verschiedenheit hat nun durch MANGINS Untersuchungen über die Verwendung des Rutheniumrots in der Pflanzenanatomie eine entsprechende Erklärung gefunden. Wie noch im Kapitel „Pektinstoffe“ hervorgehoben werden wird, hat das ammoniakalische Rutheniumsesquichlorid die Eigentümlichkeit, von Gummiarten und Schleimen nur die zu färben, die von Pektinstoffen abstammen, Zelluloseschleime aber nicht. Dadurch ist man in den Stand gesetzt, den Grund des oben erwähnten verschiedenen Verhaltens gegen Jod und Kupferoxydammoniak zu ermitteln. MANGINS Methode des Gumminachweises hat später vielfache Verwendung gefunden. MANGIN selbst benutzte sie bei seiner Arbeit „Sur la gommose de la vigne“, LUTZ in der seinen „Sur la marche de la gommose dans les Acacias“. Rutheniumrot ist ein vorzügliches Gummireagens. Daß MANGINS Neutralrot sich hier auch sehr gut verwerten lasse, beweisen die Untersuchungen von LUTZ. Färbt man nämlich mit Rouge neutre von CASELLA und Vert acid JEEE (POIRRIER), so wird die Zellulosemembran grün, Gummi

aber rot gefärbt. Dabei ist sofortige Beobachtung notwendig. Aus dem Gesagten geht hervor, daß Pektinstoff ein steter Begleiter des Gummi ist.

Wundgummi. Nach den bisherigen Untersuchungen von Temme und Molisch erschien es nicht unwahrscheinlich, daß im Wundgummi Vanillin aufgelöst sei. Daß auch noch andere Stoffe darin vorkommen, haben Mangin und Lutz gezeigt. Von einem typischen Beispiele berichtet Wieler in seiner Arbeit „Die gummosen Verstopfungen des serehkranken Zuckerrohres".

Schleim. Die große Unannehmlichkeit bei der Beobachtung von verschleimten Membranen lag, wie bekannt, hauptsächlich in der raschen Verquellbarkeit im Wasser, es wurde daher zunächst Untersuchung im Alkohol empfohlen, die aber wegen des raschen Verdampfens dieses Stoffes mit großen Schwierigkeiten verbunden ist. Diesem Übelstande scheinen fast gleichzeitig Mangin und Walliczek durch die Einführung von Bleiacetat als Beobachtungs- bezw. Untersuchungsflüssigkeit abgeholfen zu haben. Um nämlich die feinere Struktur der Samenschalen-Epidermis von Linum usitatissimum genauer als bisher untersuchen zu können, übertrug Mangin die Schnitte in eine 10prozentige neutrale Lösung von Bleiacetat und färbte mit einem Gemisch von Säurefuchsin und Neutralrot. Dabei gelang es ihm sogar, in den Schleimschichten noch Zellulose nachzuweisen, wenn er die Schnitte aus dem Bleiacetat in Kali- oder Natronlauge übertrug und dann mit Kongobrillant 4 R, Kongokorinth oder Benzoazurin ausfärbte. Bei Vorhandensein von Zellulose tritt Färbung ein, auch verrät sich die Zellulose im polarisierten Lichte. Walliczek hatte sich auch eine ganz interessante Aufgabe gestellt, nämlich den Stärkenachweis durch Verkleisterung zu erbringen, ohne dabei den Schleim zerfließen zu lassen. Die Lösung des Problems war durch die Verwendung des Bleiacetats gegeben. Er fand, daß mit Ausnahme von Kakteen-, Barosma- und Cassiaschleim kein einziger, mit Alkohol gehärtet, in Bleiacetat gelegt, verquillt, auch wenn er gekocht wird. Sämtliche von ihm beobachteten Schleime färbten sich mit Jod und Schwefelsäure gelb oder nicht. Von angeblich günstigen Schleimfarbstoffen erwähnt Mangin noch Naphthylenblau, Säuregrün, Safranin, Methylenblau und die anderen Manginschen Pektinfarbstoffe. Doch meint Walliczek, daß die Schleimfärbungen keinen praktischen Wert haben. Die Protoplasten werden nach ihm innerhalb der Schleimmembranen mit Eosin und Nigrosin und Pikrinsäure deutlich gemacht. Bei Untersuchung von Drogen wurden diese in feuchten Kammern zunächst Wasserdämpfen ausgesetzt, bis jener Feuchtigkeitsgehalt erzielt war, den frische Blätter besitzen, dann wurden sie in Alkohol gehärtet und den weiteren Prozeduren unterworfen.

5. Chitin.

Die genauen chemischen Analysen v. Wisselinghs über die Chitin- und Pilzmembranderivate machen das Vorkommen von Chitin im Pilzreiche zweifellos. Zum mikrochemischen Nachweise werden die in KOH auf 160° erwärmten Membranen zunächst in 90prozentigen

Alkohol übertragen und nachher in Wasser gebracht, worauf eine schwache Lösung von Jodjodkalium, die mit Schwefelsäure angesäuert ist, zugesetzt wird. Es färben sich die jetzt mykosin-, also früher chitinhaltigen Pilzmembranen deutlich violett. Diese Reaktion hat nun bei Untersuchungen von Pilzen und Bakterien wiederholt Anwendung gefunden. Vgl. oben die Besprechung der Pilz- und Bakterienmembranen.

Auch bei Untersuchungen über Phycochromaceen hat v. WISSELINGS Methode positive Resultate gezeitigt. HEGLER empfiehlt für diesen Zweck Vorbehandlung mit Salzsäure, Kalilauge und Kaliumpermanganat oder mit Salpetersäure und chlorsaurem Kali. Jüngst hat auch KOHL HEGLERS Befund über das Vorkommen von Chitin in der Oscillarienmembran bestätigen können.

6. Kallose.

So wie in der Geschichte der Pektinstoffe nimmt auch in der der Kallose der Name MANGIN einen hervorragenden Platz ein. Die Untersuchungen dieses Forschers haben gezeigt, daß man zwei wesentlich voneinander unterschiedene Modifikationen der Kallose unterscheiden kann, von denen die erste ohne weiteres die für die Kallose charakteristischen Reaktionen zeigt, während die zweite eine vorherige Behandlung mit kaustischen Alkalien oder Oxydationsmitteln oder mit beiden benötigt. Vgl. dazu die chemisch-analytischen Untersuchungen in MOORES Arbeit: „Reactions of callus and paracallus.“ — Nach v. WISSELINGH wird Kallose durch Brillantblau ohne Essigsäure gefärbt, von CHALON wird Benzoazurin, Benzopurpurin, Korallin und Kongorot zur Färbung empfohlen.

7. Pektinstoffe.

Mit der Geschichte unserer Kenntnis von den Pektinstoffen ist der Name MANGIN eng verknüpft. Seine ersten ausführlichen Mitteilungen über sie behandeln „Propriétés et réactions des composés pectiques.“ Behandlung der Schnitte mit Eau de Javelle, 1·5prozentiger Essigsäure behufs Neutralisierung und Färbung mit Safranin, Methylen- oder Naphthylenblau macht Pektinstoffe besonders deutlich. Der Beweis von der Leistungsfähigkeit der drei Farbstoffe wird durch langdauernde Einwirkung von Kupferoxydammoniak, bei der nur die färbbaren Skelette bleiben, und dadurch erbracht, daß durch Lösung die färbbaren Mittellamellen entfernt werden, worauf natürlich eine Reaktion unterbleibt. Die Pektinsäure soll als Calciumpektat die Mittel-

lamelle zusammensetzen. Auch ist Pektose neben Pektinsäure nachweisbar. Zwar zeigen auch Algengelose, Gummi und Pflanzenschleime die oben genannten Färbungen, doch sind sie anderweitig genug unterschieden, um eine Verwechslung auszuschließen. Somit blieben Safranin, Methylen- und Naphthylenblau, wie schon nach früheren Untersuchungen des Autors (vgl. Lit. in Z. M. und MANGINS Angaben über die Zellulosemembran) die besten Reagentien auf Pektinstoffe.

1893 empfahl MANGIN Neutralrot; es färbt Pektinstoffe und koagulierte Schleime gelborange. Im selben Jahre stellte er die Verwendbarkeit von Rutheniumrot für den Pektinstoffnachweis fest, das seither in allen Arbeiten dieses Untersuchungsgebietes verwendet wurde. Das von JOLY dargestellte Reagens hat vor den früher empfohlenen Anilinfarbstoffen voraus, daß es einen Schluß auf den Ursprung auch von Gummi- und Schleimarten gestattet und nur die aus Pektinstoffen hervorgegangenen Gummiarten oder Schleime färbt (s. o.). Freilich färbt es auch kutinisierte Membranen und plasmatische Bestandteile, doch sind diese anderweitig so gut charakterisiert, daß eine Verwechslung bei genügender Vorsicht nicht zu erwarten ist. Verholzte Membranen färben sich nur nach Vorbehandlung mit Alkali lebhaft rosa. Ein großer Vorteil besteht bei seiner Verwendung auch darin, daß es weder durch Glyzerin noch durch Alkohol oder Nelkenöl ausgewaschen wird. —

NOACK vermag bei den „Stäbchen" der Orchideenmembranen (d. h. Fortsätzen derselben in die Interzellularen des Rindenparenchyms) mit Bismarckbraun Pektin nachzuweisen. Nach G. TISCHLER verwandeln sich die Zellulosebalken des Embryosackes von Pedicularis anscheinend in Pektin. CHALON empfiehlt mehrere der von MANGIN schon angegebenen Farbstoffe zum Nachweis der Pektinstoffe. ROSENBERG macht darauf aufmerksam, daß die Exinen von Pollenkörnern verschiedener Antheren bei Drosera rotundifolia bei der Behandlung mit Farbstoffen je nach dem Wechsel der Alkaleszenz verschiedene Farben liefern. PARMENTIER schlägt Phenolsafranin-Methylenblau für Intinenfärbung vor. AVETTA berichtet von vermutlichen Pektincystolithen. BUSCALIONI weist in Kalkoxalatdrusen einen zentralen Körper nach, der die Pektinreaktionen liefert, MAGNUS Pektinstoffe in den „Zelluloseklumpen" der von der Mykorrhiza befallenen Zellen von Neottia Nidus avis. ALLEN vermag Hoftüpfeltori durch Rutheniumrot nach Vorbehandlung mit Salzsäurealkohol deutlich zu machen u. a. m. B. SCHRÖDER erwies die chemische Verwandtschaft der tierischen Mucine mit den pflanzlichen Pektinen.

Mittellamelle. Mazeration. Schon in seiner Arbeit „Sur la substance intercellulaire“ hat MANGIN die Ansicht vertreten, „daß die Mittellamelle der sogenannten Zellulosemembranen aus Pektinsäure resp. einem unlöslichen Salze derselben besteht“ und sich vornehmlich darauf gestützt, daß nach 24stündiger Vorbehandlung mit alkoholischer Salzsäure und Waschen in Wasser 10prozentiges Ammoniak die Schnitte zu mazerieren imstande ist. Später präzisierte er seine Ansicht dahin, daß er Calciumpektat als wesentlichen Bestandteil der Mittellamelle ansah, immer in der Meinung, die Vorbehandlung mit Salzsäure sei unumgänglich nötig. WILLE schloß sich dieser Ansicht auf Grund seiner Algenuntersuchungen an. Mir ist es nun gelungen, Mazeration einer Menge von pflanzlichen Objekten durch konzentrierte Ammoniak allein zu erzielen — ein Analogon zur Verwendung von Ammoniak für Mazerationszwecke im Tierreich. Dabei hatte sich gezeigt, daß Stärke-, Aleuronkörner, diese mit Globoid und Kristalloid, Siebröhren, Chorophyllkörner, Kalkoxalatkristalle u. v. a. in den getrennten Zellen gut erhalten bleiben. Dieses Verfahren läßt nun MANGINs Ansicht fraglich erscheinen. In neuester Zeit hat DEVAUX die MANGINschen Befunde einer genauen chemischen und mikrochemischen Nachprüfung unterzogen, nachdem schon ALLEN die MANGINschen Pektinstofffarbenreaktionen überprüft und als sehr geeignet gefunden hatte. Nur die weitgehende Anwendung des Methylenblaus zum Pektinnachweise hatte ALLEN eingeschränkt, da auch die stickstoffhaltigen Verbindungen gleich gut damit reagieren, und dahin ergänzt, daß er nachwies, wie bei Pteris und Tilia in älteren Geweben Pektinverbindungen ganz verschwinden und durch andere ersetzt werden. Vgl. auch CHALONs Untersuchungen aus dem Jahre 1899.

Was nun DEVAUX' Arbeiten anlangt, so verdienen sie, besonders im Hinblick auf den Widerspruch zwischen den MANGINschen Befunden und denen über die Mazeration, hervorgerufen von Ammoniak allein, eine eingehende Besprechung. Das wesentliche Ergebnis der DEVAUXschen Arbeit ist die Negierung der MANGINschen Anschauung von der Zusammensetzung der Mittellamelle aus Calciumpektat. Denn läge Calciumpektat vor, dann müßte alkoholische Salzsäure Calciumchlorid und Pektinsäure erzeugen, die in Wasser sozusagen unlöslich ist, und Schnitte aus alkoholischer Salzsäure dürften im warmen Wasser nicht zerfallen. Sie zerfallen aber in der Tat, wie DEVAUX gezeigt hat. War aber die Mittellamelle Pektose, so wird diese in Pektin verwandelt, das seinerseits wieder in Wasser löslich ist. Nun zerfallen, wie gesagt, mit alkoholischer Salzsäure gekochte Schnitte in warmem Wasser, wodurch die DEVAUXsche Anschauung viel an Wahrscheinlichkeit gewinnt, und diese muß um so größer werden, wenn es gelingt, durch Alkalien den Zerfall mit alkoholischer Salzsäure gekochter Schnitte in Wasser zu verhindern. Dies gelingt tatsächlich durch Natronlauge. Es hat sich eben nach DEVAUX das aus der Pektose gebildete Pektin in Pektinsäure verwandelt, die in Wasser fast unlöslich ist.

Bei diesen Untersuchungen kam DEVAUX besonders MANGINs Rutheniumrot zustatten, sowie die reichliche Verwendung von Alkohol als Zusatz zu Säuren, bei der Waschung u. dgl. mehr, wodurch Lokalisation des Stoffes und gute Reinigung der Reagentien ermöglicht wurde. Die Zeit für das Kochen mit alkoholischer Salzsäure ist bei den verschiedenen Pflanzen verschieden.

Devaux konnte auf diese Weise zeigen, daß es verschiedene Pektosen gibt, wodurch sich das Verhalten der verschiedenen Membranteile erklärt. Die Pektose der Mittellamelle wird am raschesten angegriffen, ja Säuren greifen sie schon in der Kälte an, wobei ein Übergangskörper zwischen Pektose und Pektin entsteht.

Um nun auf den Widerspruch zwischen den Befunden Mangins und meinen zurückzukommen, so scheinen mir die Devauxschen nicht die Klärung zu bringen, um so weniger als das verwendete Alkali bei den jeweiligen Untersuchungen nicht das gleiche war, 10 % NH_3, konz. NH_3, NaOH. In den zwei ersten Fällen bewirkt, in dem letzteren verhindert das Alkali den Zerfall. Wenn sich zeigen ließe, daß reine Pektose in konz. NH_3 allein löslich ist, dann würde in Anbetracht des Devauxschen Nachweises, daß die von Mangin verwendete alkoholische Salzsäure ohne Hilfe von 10 % NH_3, also allein, mazeriert, die Devauxsche Ansicht von der Pektosenatur der Mittellamelle eine neue, wertvolle Stütze erhalten. — Weiterhin sei noch der praktischen Ergebnisse gedacht, die Devaux mit seiner Methode, Pektinverbindungen durch Metallsalze nachzuweisen, erzielt hat. Pektinverbindungen haben nämlich die Eigentümlichkeit, Metalle in hervorragender Menge zu speichern. Um diese Metallanreicherungen, denen die Sinnfälligkeit abgeht, sichtbar zu machen, werden chemische Reaktionen zu Hilfe genommen. So färben sich mit Eisensulfat imprägnierte Wände mit Ferrocyankalium und Salzsäure intensiv blau. Tompa hat diese Eigentümlichkeit jüngst für sein Dreifarbenverfahren „Safflor-Berlinerblau-Alkanna" verwertet.

Weitere Angaben über Mazeration: Wille mazeriert Laminariagewebe mit Säuren und Sodalösung, Kroemer Kork mit Eau de Javelle, Molisch empfiehlt konzentriertes Ammoniak zur Mazeration von Milchröhren, 10prozentiges Kaliumnitrat zu der von Aphanizomenon flos aquae, nach Macallum ist für die Cyanophyceen Pikrinsäure sehr vorteilhaft.

IV. Abschnitt.

Der Plasmakörper und Zellsaft.

1. Leukoplasten.

Von allen bekannten Fixierungs- und Färbemethoden, die zur Sichtbarmachung der Leukoplasten empfohlen worden sind, hält Zimmermann Altmanns Säurefuchsinmethode, die er auf Leukoplasten übertragen hat, für die geeignetste. Als Versuchsobjekte dienten Leukoplasten von Tradescantia. Die in ihnen sichtbaren Körnchen deutete er als Eiweißkörner. Salter konnte den Wert der Zimmermannschen Methode durchaus bestätigen. Zur Fixierung empfiehlt er Sublimatalkohol (nach Altmann), Pikrinalkohol und die Zimmermannsche

Kombination beider, auch Flemmings Gemisch, zur Färbung: Säurefuchsin oder Heidenhains Eisenhämatoxylin, zur gleichzeitigen Färbung derselben und der Stärkekörner: Säurefuchsin und Gentiana- oder Methylviolett. Nach H. Fischer sind Nigrosin, Hessisch Purpur, Diamin-Echtrot, Karmin in ammoniakalischer Lösung, Anilinblau, Kongorot und Cyanin zur Färbung stärkehaltiger Leukoplasten besonders geeignet, da sich mit diesen Farbstoffen Stärke selbst nicht färbt. Außer Shaws Arbeit: „Detection of blepharoplastes in Onoclea and Marsilia", verdienen die Prowazeks und Beneckes Erwähnung, die sich mit Leukoplasten kryptogamer Gewächse beschäftigen. Nach Prowazek fehlen solche der Synedra hyalina, auch Benecke beobachtete bei der Diatome bloß Inhaltskörper, die mit Jod und Osmiumsäure stets farblos bleiben, mit Sublimateisessig-Hämalaun-Methylviolett aber deutlich unterschieden werden können. Für echte Leukoplasten war von Prowazek einprozentige Chromessigsäure und Gentianaviolett empfohlen worden.

Nach Molisch können Leukoplasten durch Wasserzutritt sehr leicht sichtbar werden, ihre äußerste Membran ist färbbar und differenzierbar mittels Säurefuchsin und Anilinblau. Kohl fand granaführenden Leukoplasten in der Epidermis von Agave americana und dem Stengelparenchym von Equisetum arvense, die mit alkoholischer Kalilauge Phytosterinsphärite geben, es scheinen Fettbildner zu sein.

2. Elaioplasten.

Die von Wakker beschriebenen Ölbildner oder Elaioplasten bestehen aus einer Grundmasse, einer Proteïnsubstanz, und einer Einlagerung von einem fettartigen Körper. Zimmermann, der in eingehender Weise Wakkers Befunde überprüft hat, konnte diese Auffassung von der Natur der Ölbildner im vollen Umfange bestätigen und zu dem relativ beschränkten Vorkommen der neuen Gebilde, wie es in der Arbeit Wakkers zum Ausdruck kommt, noch einige weitere Fundorte namhaft machen.

Zu den Elaioplasten werden oder wurden auch gewisse strittige Objekte gezählt, die heute entweder noch hierher gerechnet werden oder anderswo untergebracht worden sind, z. B. die Ölkörper der Lebermoose (s. o. und Z. M. p. 205, 206).

Bei den Algen hat Golenkin die von Berthold als Lichtschutzorgane, von Hansen als Glykogen beschriebenen Inhaltskörper der Florideen für echte Elaioplasten erklärt. Für diese Anschauung spreche, abgesehen von ihren sonstigen Reaktionen, auch deren Färbbarkeit mit Toluidin.

Wie bekannt, hat Crato bei Dictyota dichotoma eigenartige Körper, die „Physoden" beschrieben, welche zu Verwechslungen Anlaß geben könnten. Zur Unterscheidung empfiehlt Golenkin schwache Lösungen

von Methylgrün in Seewasser, in dem die kleinen Kugeln (CRATOs Physoden) nach 24 Stunden prachtvoll grün werden, während die großen (GOLENKINs Elaioplasten) farblos bleiben.

Elaioplastenartige Körper fand GOLENKIN auch bei Sebdenia Monardiana, die sich mikrochemisch dadurch wesentlich von den Ölbildnern unterscheiden, daß sie beim Glühen ein Skelett zurücklassen. Doch konnte der anorganische Partner nicht ermittelt werden. Als Elaioplasten werden ferner aufgefaßt die von LUNDSTRÖM beschriebenen ölbildnerähnlichen Gebilde in den Epidermiszellen von Potamogetonarten. LIDFORSS hat sich neuerlich wieder mit ihnen beschäftigt und beschreibt als Inhalt derselben einen aromatischen Aldehyd und Calciumoxalat.

3. Proteosomen.

LOEW und BOKORNY nennen Proteosomen diejenigen Ausscheidungen, die in verschiedenen Pflanzenzellen durch Coffeïn oder Antipyrin hervorgerufen werden. In ihrer Arbeit „Zur Chemie der Proteosomen“ besprechen sie die Mittel zur Herstellung von Dauerpräparaten und das Verhalten dieser Körper bei den gewöhnlichen Eiweißreaktionen, gegen verdünnte Säuren, kochendes Wasser, 10—20prozentigen Alkohol und Pepsin-Salzsäure und kommen zu dem Schlusse, daß die Proteosomen aus Eiweiß, aber aus einem besonderen, bestehen, welches sich vom gewöhnlichen dadurch unterscheidet, daß es durch 0·1prozentiges Ammoniak in feste Kugeln umgewandelt wird, die durch Druck in Stücke zerbrechen, und durch 10prozentige Salzsäure erst nach längerer Digestion bei 80° in Lösung gebracht werden können. Beachtenswert ist, daß die in abgestorbenen Zellen enthaltenen Proteosomen alle Eigenschaften des gewöhnlichen Eiweißes besitzen. Gerbstoffkügelchen seien diese Fällungsgebilde nicht. Dazu vgl. die Kritik KLEMMs im Abschnitt „Das Löw-BOKORNYsche Reagens auf aktives Albumin“ des Kapitels „Eiweiß“. — Nach jener Kritik erscheint es doch am besten, bei den alten Lebensreaktionen zu bleiben und Plasmolyse und Färbung heranzuziehen.

Aggregation. — Schon HUGO DE VRIES hat darauf aufmerksam gemacht, daß man unrichtigerweise zwei getrennte Prozesse, die Zerklüftung der Vakuole und die auftretenden Fällungen, mit DARWIN als Aggregation-Körnchenbildung zusammenfasse, der Referent von KLEMMs Arbeit „Beitrag zur Erforschung der Aggregationsvorgänge in lebenden Pflanzenzellen“, A. ZIMMERMANN, scheint nun die passenden Bezeichnungen gefunden zu haben. Die von KLEMM angedeutete und von ZIMMERMANN geprägte scharf unterscheidende Benennung lautet wie folgt: Granulation = die durch Ammonsalze und ähnliche Stoffe bewirkte Fällung. — Aggregation = physiologische Aggregation im Sinne HUGO DE VRIES' ist Vakuolenzerklüftung und Protoplastenvergrößerung.

Zur Erzeugung der Granulation sind Ammonsalze und Coffeïn besonders geeignet. Die entstandenen Körnchen enthalten zumeist Gerbstoff. Ihre Entstehung hat übrigens mit dem Leben, wie BOKORNY annimmt, gar nichts zu tun (s. o.).

Anhang.

1. Die quantitative Analyse in der Mikrochemie.

Sowie in der Chemie überhaupt der quantitativen Analyse die qualitative vorausgegangen ist und erst nach deren Ausbau zur quantitativen übergegangen werden konnte, so auch bei der Mikrochemie. Erst mußte H. Behrens in seinem bekannten Werke die Methode der qualitativen Analyse niedergelegt haben, ehe an eine quantitative zu denken war. Und wurde nun der Schritt zur quantitaven Analyse getan, so ist er natürlich eben als der erste derartige Schritt zu betrachten, als erster tastender Versuch, dem andere vielleicht sicherere folgen werden.

Vor einigen Jahren habe ich mich mit der Überprüfung der Methoden des Magnesium-Nachweises beschäftigt, und zwar mit besonderer Bezugnahme auf die Anwendbarkeit derselben für den Magnesium-Nachweis in der Pflanze. Die Bestimmung der Empfindlichkeitsgrenzen, die eine ganze Skala empfindlicher und weniger empfindlicher Reaktionen ergab, drängte mir damals den Gedanken auf, nach dem „Gabelverfahren" (Ermittelung des Reagens, mit dem eben noch eine, und jenes, mit dem keine Reaktion mehr eintritt), die Menge des in mineralischen Lösungen, Preß-, Milch- und Schleimsäften u. s. f. enthaltenen Magnesiums mikrochemisch quantitativ zu bestimmen. Bei diesen Untersuchungen hat sich auch herausgestellt, daß entgegen der Anschauung von Behrens, wonach die Lösungen der Reagentien so konzentriert wie möglich verwendet werden sollen, gerade verdünnte Lösungen derselben die besten Resultate geben, denn es ist nicht so sehr die Konzentration maßgebend für normale schöne und reichliche Entwicklung von Fällungen, als daß man die reagierenden Substanzen im Verhältnisse ihrer Verbindungsgewichte verwendet.

Gössl konnte in seiner Arbeit über das Mangan in seinen Beziehungen zur Pflanze für die Bildung des Manganammoniumphosphates dieses Ergebnis bestätigen.

Als quantitative Analyse im weiteren Sinne kann man auch jene Methoden ansehen, die aus den Größenverhältnissen von mikroskopischen Objekten bestimmter Gestalt mit Hilfe der geometrischen Formeln eine Vorstellung von dem Volumen geben, das mit Berücksichtigung des spezifischen Gewichtes des untersuchten Stoffes auch dessen Quantität wenigstens annäherungsweise bestimmen läßt. Auf diese Weise bestimmte Mesnard die Menge fetten Öls bei der Keimung fetthaltiger Samen. Hierher gehört auch Kohls volumetrische Bläschenzählmethode. Eine andere sehr interessante quantitative volumetrische Analyse mikroskopischer Natur gab Gerassimoff an. Er sieht den Kern als Rotationsellipsoid an, bestimmt dessen große und kleine Achse und berechnet nachher nach bekannter Formel ($V = \frac{4}{3} \pi a^2 b$) das Volumen. Auf diese Weise konnte er zeigen, daß das Volumen und damit die Masse eines Kernes aus einer Zygotenfadenzelle von Spirogyra das des gewöhnlichen Kernes um ein Bedeutendes übertrifft ($V : v = 1240,_{911}\,\mu^3 : 745,_{545}\,\mu^3$).

2. Vitalfärbung des Protoplasmas.

Seit der Entdeckung Pfeffers von der Aufnahme von Farbstoffen seitens des lebenden Plasmas sind eine ganze Reihe interessanter Beobachtungen veröffentlicht worden, die die Pfefferschen vollauf bestätigen und den Beweis erbringen, daß diese Fähigkeit des lebenden Plasmas, aus mehr minder verdünnten Lösungen Farbstoffe aufzunehmen, nicht ein Charakteristikon einiger weniger Pflanzen, sondern eine allgemeine Eigentümlichkeit ist.

Man kann dabei Fälle unterscheiden, wo speziell die Gerbstoffzellen oder überhaupt vorhandene Gerbstoffe gierig den Farbstoff speichern, und solche, wo das ganze Plasma oder Partien desselben, ohne daß man von Gerbstoffimbibition reden könnte, den gebotenen Farbstoff aufnehmen.

Die Fälle der ersten Kategorie habe ich bereits im Kapitel Gerbstoff erledigt. Hierher dürften auch die Angaben von Nestler über die Lebendfärbung der Blasenzellen von Antithamnion Plumula mit arsenfreiem Anilinblau zu rechnen sein, wenn man auch bisher den Träger dieser Idioblastenfärbung nicht genau ermitteln konnte. Interessant ist dabei, daß man bei sehr verdünntem Farbstoffe die Speicherung nicht direkt sieht, wohl aber nach Zusatz von Säuren oder Chloralhydrat, ebenso macht erst Eisenchlorid das intravital gespeicherte Tannin sichtbar. Die Fälle der zweiten Kategorie mögen an der Hand des Pflanzensystems angeführt sein.

Bakterien und Pilze. Matruchot kultivierte neben chromogenen auf demselben Substrate farblose Bakterien. Dabei zeigte sich, daß das Plasma der farblosen das Chromogen der farbigen aufnahm.

Weitere Arbeiten haben gezeigt, daß sich gewisse Schimmelpilze, z. B. Fusarium und Penicillium sp., ganz analog verhielten wie die oben erwähnten Bakterien. In der Folge baute Matruchot seine Methode noch weiter aus und hat sie wie Rosenberg auch in den Dienst der Mikrotechnik gestellt. „Violaceïn“, der Farbstoff des Bacterium violaceum und der von Fusarium polymorphum können für Vitalfärbungen verwendet werden. Den tingierbaren Teil des Plasmas nennt Matruchot Enchylema, den nicht färbbaren Hyaloplasma. In seiner Arbeit „Sur le protoplasme des Schizophytes“ empfiehlt Massart Methylenblau zur Lebendfärbung. Die brauchbare Konzentration muß nach ihm für jeden Organismus ermittelt werden.

Ein vorzügliches Versuchsobjekt für Vitalfärbungen ist die Bierhefe. Küster empfiehlt zur Untersuchung der in den Vakuolen der Bierhefe herumschwimmenden Körnchen Neutralrot, mit dem sie sich im lebenden Zustande intensiv färben. Meine Angabe über die Vortrefflichkeit der Hefe als Versuchsobjekt für Vitalfärbung basiert jedoch vornehmlich auf Rosenstiehls Arbeit, der bewies, daß die Hefe Fuchsin aus wässrigen Lösungen bis zu 8 Prozent, Malachitgrün bis 5 bis 6 Prozent des eigenen Gewichtes aufzunehmen imstande ist, ohne abzusterben. Ebenso werden von ihr Rosanilin, Safranin und Thioninfarben gierig gespeichert. Auch Tannin kann reichlich aufgenommen werden.

Der Frage, ob die Farbstoffe als solche, oder als Leukoprodukte in das Plasma eintreten, und dort erst reoxydiert werden, haben sich unter anderen Fragen Plato und Guth in ihrer interessanten Arbeit „Über den

Nachweis feinerer Wachstumsvorgänge in Trichophyten und anderen Fadenpilzen mittels Neutralrot" gewidmet und für Neutralrot im zweiten Sinne beantwortet. Bekanntlich kultivierten die beiden Forscher Penicillium brevicaule auf arsenhaltigen Nährboden. Dabei verwendeten sie Neutralrot zur Vitalfärbung des Pilzes und einer aus einer Pustel gezüchteten Trichophyton-Art. Besonders stark färbten sich die Granula, die im abgetöteten Zustande der Pilze Neutralrot nicht aufzunehmen vermögen.

Die Granulafärbung gelang auch mit dem Neisserschen Diphtheriebazillenfärbeverfahren.

Algen. Wie schon angeben, hat Nestler Vitalfärbung bei Antithamnion erzielt. Provazek führte sie bei Synedra hyalina, einer apochlorotischen Bazillarie, mit Neutralrot durch. Die Färbung übertrug sich vom Zellsaft auf das Plasma.

Höhere Pflanzen. Němec gelang es durch Vitalfärbung mit Methylenblau und durch geeignete Fixierungs- und Färbemethoden in den Wurzelspitzen von Allium Cepa etc., vgl. dazu Haberlandt und Koernicke, deutlich differenzierte Stränge nachzuweisen, die er für reizleitend hielt.

Eine Art Monographie der Vitalfärbung hat Overton in seiner usaführlichen Arbeit „Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle" geliefert, deren Hauptergebnis lautet: Alle Farbstoffe, die in fetten Ölen oder ähnlichen Lösungsmitteln leicht löslich sind, werden auch von der lebenden Zelle rasch, dagegen die in Ölen schwer oder nicht löslichen nicht aufgenommen, vgl. dazu diese Zeitschr. Bd. XVII, p. 335.

Bibliographie.

Die Abkürzungen der Zeitschriftennamen sind die üblichen und im allgemeinen ohne weiteres verständlich. Zu beachten: Ann. Belg. (Ann. de la soc. belg. de microsc.), Ann. Roma (Ann. del R. Ist. bot. di Roma), Ann. Soc. Roy. (Ann. de la Soc. roy. des Sc. méd. et nat.), Bibl. V. Stockh. (Biol. Versuchsanst. Stockholm), Bull. H. B. (Bull. de l'herb. Boissier), K. A. A. (Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam), Mitt. f. W. u. A. (Mitteil. kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung u. Abwasserbeseitigung Berlin). — Arbeiten, die bereits in Z. M. genannt worden sind, werden hier nicht mehr angeführt. Wegen der in dieser Zeitschrift erschienenen Referate vgl. bes. Register II (Bd. XI—XX), 1904.

Adler, O., Eisenbakt. in ihrer Beziehung zu d. therapeutisch verw. nat. Eisenw. (A. f. Bakt. Abt. II, Bd. XI, 1903, p. 218). — Allen, Ch. E., Origin a. nat. of the middle lamella (B. G. vol. XXXII, 1901, p. 1). — Andrews, Fr. M., Wirkung d. Zentrifugalkr. Pr. Jb. Bd. XXXVIII, 1903, p. 34. — Arcangeli, A., Studi dello Czapek sui tess. lignif. (Bull. S. Bot. ital. 1899, p. 167). — Arnaud, A., et Padé, L., Rech. chim. de l'acide nitr. etc. (C. R. T. XCVIII, p. 1488). — Arnoldi, W., Beitr. z. Morph. d. Gymnosp. IV (Z. d. landw. Hochsch. Nowo-Alexandria Bd. XVI, 1903, fasc. 1). — Auerbach, L., Sexuell. Gegensatz in d. Chromatophilie (Sitzber. Akad. Berlin Bd. XXXV, 1891, p. 713).

Bargagli-Petrucci, G., Concrez. silic. intracell. nel legno second. di alc. Dicot. (Malp. vol. XVII, 1903, p. 23). — Barger, G., Saponarin, ein neues Glykosid etc. (B. d. ch. Ges. Bd. XXXV, 1902, p. 1296). — Barth, H., Stud. üb. d. mikroch. Nachw. v. Alkaloïden (B. C. Bd. LXXV, 1898). — Beck, G. v., Über die Verwend. d. Persio-Essigs. zu mikrosk. Tinkt. (Lotos 1904, p. 168). — Behrens, H., Mikroch. Nachw. u. Unterscheid. d. Phenole (Z. f. a. Ch. 1902, p. 141). — Behrens, J., Vork. d. Vanillins in d. Vanille (Tropenpfl. Jahrg. III, 1899, p. 299). — Beijerinck, M. W., Culturvers. m. Zoochlor. etc. (Bot. Zeitg. 1890, p. 744); Photobact. as a React. in the Investig. of the Chlorophyllfunction (K. A. Amsterd. 1901. p. 45); On Indigo-Ferment. on the Formation of Indigo. Further res. on the Formation of. Ind. (ibid. 1898—1900); Eigentümlichk. d. lösl. Stärke (C. f. Bakt. II. Abt., Bd. II, 1896, p. 697). — Benecke, W., Farblose Diat. d. Kieler Föhrde (Pr. Jb. Bd. XXXV, 1900, p. 535). — Belzung, E., Sur divers principes issus de la germ. et leur crist. intercellul. (J. de B. 1892, p. 49); Nat. des sphérocrist. des Euphorbes cactif. (J. de B. 1893, p. 221); Exist. de l'oxal. de calc. à l'état dissous (J. de B. 1894, p. 213). — B. et Poirault, G., Sur les sels de l'Angiopteris evecta etc. (J. de B. 1892, p. 286). — Bertel, R., Aposphaeria violocea etc. (Ö. b. Z. 1904, p. 205). — Berthold, G., Unters. z. Phys. d. pfl. Org. I. (Leipzig 1898). — Bertrand, G., Rech. s. l. compos. imm. d. tiss. vég. (C. R. Bd. CXIV, 1892, p. 1492). — Biermann, Bau u. Entwickl. d. Ölzellen etc. (Diss. Berl. 1898). — Binz, A., Beitr. z. Morph. u. Entwgesch. d. Stärke (Flora, Ergbl. 1892). — Bittó, B. v., Estimation of lecithin in plants (J. R. M. 1896, p. 484). — Bokorny, Th., vgl. Loew, O. — Boubier, A. M., Contrib. à l'ét. du pyrenoïde (Bull. H. B. Bd. VII, 1899, p. 451). — Brand, F., Bem. üb. Grenzzellen etc. (B. d. d. B. G. Bd. XIX, 1901, p. 152). — Braunmüller, E., vgl. Reinke, J. — Brauns, R., Mikrochem. Reakt. auf Salpetersäure. — Brenner, W., Unters. an. einig. Fettpfl. (Fl. Bd. LXXXVII, 1900, p. 387). — Bruns, E., Beitr. z. Anat. einig. Florid. (B. d. d. b. G. Bd. XII, 1894, p. 178). — Buscalioni, L., Sulla strutt. d. granuli d'amido d. mais (N. G. B. J. Bd. XXIII, 1891, p. 45); Studi sui crist. di ossalato calcio (Malp. Bd. IX, X, 1895—1896); Nuovo reatt. p. l'istol. veg. (Malp. Bd. XII, 1898); Sudan III u. s. Verw. in d. bot. Mikrot. (B. Zbl. Bd. LXXVI, 1898, p. 398). — Buscalioni, L., e Pollacci, G., Antocianine ed il loro significato biolog. (Atti di Pav. Bd. VIII, 1903). — Buscalioni, L., e Traverso, G. B., Evol. morf. del fiore (Milano 1904). — Busse, W., Beitr. z. K. der Morph. u. Jahresperiode d. Weißtanne (Diss. Freiburg, Flora Bd. LXXVII, 1893, H. 3); Stud. üb. d. Vanille (Arb. Gesundheitsamt Bd. XV, 1898). — Büttner, R., Gerbsäure-Reakt. in d. leb. Pflanzen. (Diss. Erlangen 1890, p. 63).

Cazzani, E., Osserv. crit. sopra alc. ric. dell'esculina etc. (Atti di Pav. II. S. Bd. X, 1904). — Chalon, J., Nouv. sér. d'exp. s. l. col. microchim. d. parois cellul., id. III. sér. (Bull. d. R. Belgique Bd. XXXVI, XXXVII, 1898, p. 12 u. 59); Notes de technique I. u. II. (Bull. d. R. Belgique Bd. XXV, 1898—1899, p. 106). — Clautriau, G., Localis. et signif. d. alcal. d. q. grains (Ann. d. Belge Bd. XVIII, 1894, p. 35); Les rés. hydroc. d. Thalloph. (Misc. déd. Giard. 1899, p. 114); Nat. et signif. d. alcal. vég. (Ann. Soc. Roy. Bd. IX,

1900); Etud. chimiq. du glycogène chez les champignons et les levures (Mém. cour. et autr. Mém. p. l'Acad. roy. d. Belg. 1895, 3./III.). — Correns, C., Üb. d. veg. Zellmembr., e. Kritik d. Ansch. Wiesners (Pr. Jb. Bd. XXVI, p. 587); Membr. v. Caulerpa (B. d. d. b. G. Bd. XII, 1894, p. 355); Membr. u. d. Bew. d. Osc. (B. d. d. b. G. Bd. XV, 1897, p. 139). — Crato, E., Morph. u. mikrochem. Unters. üb. Phys. (Bot. Zeitg. 1893, p. 157). — Creighton, Ch. M. D., Microsc. res. on the form property of glycogen (London 1896). — Czapek, Fr., Biochemie (Jena 1905); Z. Lehre v. d. Wurzelausscheid. (Pr. Jb. Bd. XXIX, 1896, p. 321); Leitungsw. d. org. Baust. im Pflanzenkörper (Sb. Wien Bd. CVI, 1., 1897); Befund an geotrop. gereizt. Wurzeln (B. d. d. b. G. Bd. XV, 1897, p. 516); Beitr. z. k. d. geotrop. Reizbeweg. (Pr. Jb. Bd. XXXII, 1898, p. 175); Sog. Ligninreakt. d. Holzes (Zt. f. ph. Ch. Bd. XXVII, 1899, p. 141); Biol. d. holzbewohn. Pilze (B. d. d. b. G. Bd. XVII, 1899, p. 166); Chemie d. Zellm. b. d. Laub- u. Lebermoosen (Flora Bd. LXXXVI, 1899, p. 361).

Dangeard, P. A., Struct. et communic. protopl. d. le Bact. flav.; Rech. s. l. Euglén. (Bot. sér. VII, p. 33, 97). — Darbishi, L. O., Observ. sur Mamillaria el. (A. of B. Bd. XVIII, 1904, p. 375). — Dastre, A., Rech. d. ferments endo-cell. par la dialyse chlorof. (C. R. Biol. 1901, p. 34). — Deans, Exper. stud. on Inulase (B. G. Bd. XXXV, 1903, p. 24); On Inulin (Amer. chem. J. Bd. XXXII); On Proteol. Enz. (B. G. Bd. XXXIX, p. 321). — Debski, B., Bau u. Beweg. d. Bl. d. Marantaceen (Anz. d. A. Kr. 1895, p. 244); Beobacht. an Chara foetida (Pr. Jb. Bd. XXXII, 1898, p. 267). — Devaux, H., Réact. color. d. subst. pect. etc. (Linn. Bordeaux 1901); Pectose des par. cell. etc. Nat. de la lam. moy. (ibid. 1903). — Dodge, C. W., Durable stain f. starch (J. a. M. Bd. I, 1898, p. 131). — Dop, P., Pollen d. Asclép. (C. R. Bd. CXXXV, 1902, p. 710). — Dünnenberger, C., Chem. Reagent. u. Reakt. (Zürich 1894).

Elfstrand, M., Stud. üb. Lokalis. d. Alkal. etc. (Upsala Univ. 1895). — Ellram, W., Üb. d. mikrochem. Nachw. v. Nitraten in Pfl. (Sb. Dorpat Bd. XI, 1895). — Eschbaum, T., Kristallinische Ausscheid. i. Nährböden (Ber. d. d. pharm. G. Bd. XII, 1902, p. 177).

Faber, F. C. v., Z. Verholzungsfr. (B. d. d. b. G. Bd. XXII, 1904, p. 177). — Feinberg, L., Bau d. Hefez. (B. d. d. b. G. Bd. XX, 1902, p. 567). — Feldhaus, J., Quant. Unters. d. Verteil. d. Alkal. in d. Org. v. Datura (Marburg 1903). — Fenton u. Gostling, zitiert nach Grafe (Chem. Soc. 1899 u. 1901, p. 423 u. 811). — Fiori, zitiert nach Pollacci (Malp. Bd. IX, 1895, p. 370). — Fischer, A., Unters. üb. d. Bau d. Cyanophyceen u. Bakt. (Jena 1897); Fixier., Färb. u. Bau d. Protopl.; Krit. Unters. üb. Technik u. Theorie in d. neuer. Zellforsch. (Jena 1899); Zelle d. Cyanoph. (Bot. Ztg. 1905); Neue Glykogenfärb. (Zbl. f. w. A. Bd. XXVI, 1905, p. 399). — Fischer, B., Fettfärb. m. Sudan III u. Scharlach R. (C. f. a. P. Bd. XIII, 1902, p. 943). — Fischer, H., Üb. Inulin etc. (Cohns Beitr. Bd. VIII, 1898, p. 53); Stärke u. Inulin (Beih. z. B. Zbl. Bd. XII, 1902, p. 226). — Fischer, K., Mikrophotogr. v. Inulinsph. u. Stärkekörn. (B. d. d. b. G. Bd. XXI, 1903, p. 107). — Fitting, H., Bau u. Entwicklungsgesch. d. Makrosp. v. Isoëtes etc. (Bot. Ztg. Bd. LVIII, 1900, p. 107). — Fritsch,

F. E., Vork. v. Kautschuk b. Hippocrateaceen etc. (Beih. z. B. Zbl Bd. XI, 1901, p. 283). — Fuchs, P. C., Raphidenzelle (Ö. b. Z. (Bd. XLVIII, 1898, p. 324). — Fujii, K., Bestäubungstropf. d. Gymn. (B. d. d. b. G. Bd. XXI, 1903, p. 211).

Géneau de Lamarlière, L., Rech. s. qu. réact. d. membr. lignif. (R. g. de Bot. Bd. XV, 1903, p. 149). — Gerassimoff, J. J., Üb. d. Copulat. d. zweikern. Zellen b. Spirogyra (Moskau 1898). — Gießler, R., Lokalis. d. Oxals. (Jen. Zeitschr. N. F. Bd. XXVII, p. 344). — Gilson, Eugène, Cristallis. de la cellulose etc. (Cellule T. IX, 1893, p. 397); Rech. chim. s. la membr. cell. d. champ. (ibid. T. XI, 1894, p. 5). — Gjokić, G., Chem. Beschaff. d. Zellh. b. d. Moosen (Ö. b. Z. Bd. XLV, 1895, p. 330). — Gola, G., Schwefel u. s. Verbind. (Malp. Bd. XVI, 1902, p. 368). — Golenkin, M., Algolog. Not. (Bull. Moscou 1884). — Goris, Alb., Rech. microch. s. qu. glucosides et qu. tannins vég. (Paris Thèse 1903). — Gößl, J., Mangan in d. Pfl. etc. (Beih. z. b. Zbl. Bd. XVIII, Abt. 1, 1904, p. 119). — Gostling u. Fenton, vgl. diesen. — Grafe, V., Unters. üb. d. Holzsubst. (Sb. Wien Bd. CXIII, Abt. 1, 1904); Neue Reihe v. Holzreakt. (Ö. b. Z. Bd. LV, 1905, p. 174). — Gram, B., Proteïnkörn. i. Samen d. Ölgew. (L. V. Bd. LVII, 1902, p. 257). — Graßberger, R. u. Passini, F., Jodreakt. f. bakt. Diagn. (Wien. klin. Wochenschr. 1902, No. 1). — Griffiths, A. B., Mat. color. d. Micr. prod. (C. R. Bd. CXV, 1892, p. 321). — Grüß, J., Diastase i. Pflanzenkörp. (B. d. d. b. G. Bd. XIII, 1895, p. 2); Beitr. z. Phys. d. Keim. (L. J. Bd. XXV, p. 384); Eindr. v. Subst. bes. v. Diast. i. d. Stärkekorn (Beitr. z. w. B. Bd. I, 1895, p. 295); Stud. üb. Reservecell. (B. C. Bd. LXX, 1897, p. 242); Rohrzuckerbild. a. Dextr. (B. d. d. b. G. Bd. XVI, 1898, p. 17); Oxydasen u. d. Guajakreakt. (B. d. d. b. G. Bd. XVI, 1898, p. 129); Peroxydase, d. Reversionsenz. d. Oxyd. (B. d. d. b. G. Bd. XXI, 1903, p. 356). — Grüttler, W., Samensch. einig. Lythrac. (Bot. Ztg. 1893, 2. Abt., p. 1). — Guérin, P., Rech. s. la local. d. l'anagyrine et de la cytis. (Bull. de France 1895, p. 428). — Guilliermond, A., Rech. cyt. s. l. levures (Rev. gén. de Bot. Bd. XV, 1903, p. 49); Contr. à l'ét. de l'épiplasme d. Ascom. etc. (Ann. Mycol. Bd. I, 1903, p. 201); Contr. à l'ét. d. l. form. d. asques etc. (Rev. gén. de Bot. Bd. XVI, 1904, p. 49); Rech. s. la Karyok. ch. l. Ascom. (Rev. gén. de Bot. Bd. XVI, 1904, p. 129).

Haarmann, vgl. Tiemann. — Haberlandt, G., Fibrill. Plasmastr. (B. d. d. b. G. Bd. XIX, 1901, p. 569). — Hansen, A., Stoffbild. b. d. Meeresalg. (Mitt. Neap. Bd. XI, 1893, p. 255). — Hansteen, B., Fucosan etc. (Pr. Jb. Bd. XXXV, 1900, p. 611); Eiweißsynth. i. grün. Pfl. (Pr. Jb. Bd. XXXIII, 1899, p. 417). — Hartwich, C., Bem. üb. Semen Stroph. (Apotherztg. 1901, No. 18ff.). — Hartwich, C., u. Uhlmann, W., Nachw. d. fetten Öles etc. (Arch. d. Pharm. Bd. CCXL u. CCXLI, 1902 u. 1903, p. 471, 111). — Harz, C. O., Paraffinöl a. Ersatz f. Kanadabals. etc., Jodstärke (Sitzb. f. Morph. u. Phys. Bd. XIV, 1898, p. 127). — Heckel, Ed., et Schlagdenhauffen, Fr., Rapports gén. d. mat. résin. et tann. etc. (C. R. Bd. CXIV, 1892, p. 1291) .— Hegler, R., Organisat. d. Phykochromac. (Pr. Jb. Bd. XXXVI, 1901, p. 229). — Heidenhain, M., Nilblaubase a. Reagens etc. (Arch. f. d. ges. Phys. Bd. C, 1903,

p. 217). — Heinricher, E., Biol. Stud. d. G. Lathraea I. (Sb. Wien Bd. CI, Abt. 1, 1892); Massenhaft. Auftr. v. Kristall. i. d. Laubtrieb. d. Kartoffelpfl. (B. d. d. b. G. Bd. IX, p. 287); Saugorg. d. Schuppenwurz.-Arten (Cohns Beitr. Bd. VII, 1895). — Herxheimer, G., Bemerk. z. Fettfärb. (Zbl. f. a. P. Bd. XIV. 1903, p. 87). — Hesse, zitiert n. Verschaffelt, E. (B. d. d. ch. G. Bd. XXXII u. XXXIV, 1899 u. 1901, p. 2611, 2916). — Hieronymus, G., Beitr. z. Morph. u. Biol. d. Algen I. u. II. (Cohns Beitr. Bd. V, p. 461). — Hirschsohn, Ed., Reagens a. Myrrhe (Z. f. ang. Mikr. Bd. IX, 1903, p. 301). — Hinze, G., Thiophysa vol. (B. d. d. b. G. Bd. XXI, 1903, p. 309); Schwefeltropf. i. Inn. v. Oscill. (ibid. Bd. XXI. 1903. p. 394; Zellen v. Beggiatoa mir. (ibid. Bd. XIX, 1901, p. 369). — Hoffmann, C., zitiert n. Lindner (Zbl. f. Bakt. Bd. II, Abt. 2, p. 537). — Hoffmeister, C., Mikroch. Nachw. v. Rohrz. i. pfl. Gew. (Pr. Jb. Bd. XXXI, 1898, p. 668); Nachw. d. Zellk. b. Saccharom. (Zeitschr. f. d. g. Brauw. 1902, p. 225). — Huie, L., Proteïn cryst. a. their probable relat. etc. (Cellule Bd. XI, 1895, p. 83). — Hunger, F. W. T., Reduz. Körp. d. Oxyd.- u. Peroxydasereakt. (B. d. d. b. G. Bd. XIX, 1901, p. 374); Assimil. prod. d. Dictyotac. (Pr. Jb. Bd. XXXVIII, 1902, p. 70).

Ikeda, T., Funct. of antipod. etc. in Liliaceae (Bull. Tokyo Bd. V, 1902, p. 41). — Ikeno, S., Sporenbild. v. Taphrina (Fl. Bd. XCII, 1903, p. 1). — Irgang, G., Üb. saftaussch. Elem. u. Idioblast. b. Trop. majus (Sb. Wien Bd. CXI, Abt. 1, 1902, p. 723). — Istvanffi, Gy., Rech. sur la loc. de la subst. active dans le piment (Termesz. Füzetek Bd. XIV, 1891, p. 197). — Iwanoff, L., Auftr. u. Schwinden d. Phosphorverb. i. d. Pfl. (Pr. Jb. Bd. XXXVI, 1901, p. 355).

Jäger, L., Endosp. bild. u. z. Embryol. v. Tax. bacc. (Fl. Bd. LXXXVI, 1899, p. 241). — Jahn, E., Comatricha obtusata P. (Festschr. Schwend. Berl. 1899, p. 288); Myxomycetenstudien I. (B. d. d. b. G. Bd. XIX, 1901. p. 97). — Janssens, Fr. A., u. Leblanc, A., Rech. cytol. s. la cell. de lev. (Cellule Bd. XIV, 1898, p. 203). — Janssens, Fr. A. et Mertens, Ad., Et. microch. et cytol. d'une Torula rose (Cellule Bd. XX, 1903, p. 351). — Johnson, D. S., Cristalliz. of cellulose (B. G. 1895, p. 16).

Kaiser, O., Kernteil. d. Charac. (Bot. Zeitg. 1896, Abt. 1, p. 61). — Kamerling, Z., Biol. u. Phys. d. Marchant. (Fl. Bd. LXXXIV, 1897, p. 1). — Keller, J. A., Color. matt. aril of Celastrus (Philadelphia 1896, p. 212). — Keller, H., Kohlenhydr. d. Monok. (Münster 1894). — Kindermann, V., Fruchtkörp. v. Stereum (Ö. b. Z. Bd. LI, 1901, p. 32). — Klebahn, H., Gasvak. etc. (Flora Bd. LXXX, 1895, p. 241). — Klemm, P., Beitr. z. Erforsch. d. Aggregationsvorg. in leb. Pflanzenzell. (Fl. Bd. LXXV, 1892, p. 395). — Klercker, J., Beitr. z. Method. bot. Unters. (Biol. V. Stockh. 1891, No. 3). — Knuth, P., Nachw. v. Nectarien a. chem. Wege (B. C. Bd. LXXVI, 1898, p. 76). — Kny, L., Intracell. Protopl. I—III (B. d. d. b. G. Bd. XXI, 1903, p. 29; XXII, 1904, p. 347; XXIII, 1905, p. 96). — Koernicke, M., Heut. St. d. pflanzl. Zellforsch. (B. d. d. b. G. Bd. XXI, 1903, p. [105]). — Kohl, F. G., Assimil. Energie d. blauen u. viol. Strahl. (B. d. d. b. G. Bd. XV, 1897, p. 111); Organisat. u. Phys. d. Cyanophyceenzelle (Jena 1903); Unters. üb. Karotin (Leipzig 1902; Raphidenzellen

(B. C. Bd. LXXIX, 1899, p. 273). — Kolkwitz, R., Beitr. z. Biol. d. Florid. (W. M. Helgol. Bd. IV): Abwasserpilz Leptom. lacteus (Mitt. f. W. u. A. Berlin 1903). — Kraemer, H., Struct. of the starch gr. (B. G. Bd. XXXIV, 1902, p. 341). — Krasser, Fr., Neue Method. z. Präp. d. Aleuron (Sb. d. zool. b. G. Wien Bd. XLI, 1891); Anwend. d. Milchs. in d. bot. Mikrotechn. (D. Apoth.-Ztg. Bd. IV, 1898, p. 211). — Kraus, G., Verhalt. d. Zuckersaft. d. Zell. etc. (Bot. Ztg. 1876, p. 603). — Kritzler, H., vgl. A. Tschirch. — Kroemer, K., Angebl. Vork. v. viol. Chromatoph. (B. C. Bd. LXXXIV, 1900, p. 33); Wurzelhaut, Hypodermis u. Endod. etc. (Bibl. Bot. Bd. LIX, 1903). — Kruch, O., Kristalloïde v. Phytolacca (Atti Lincei Bd. V, 1896). — Küster, E., Charakt. d. Chrysobalaneen (B. Zbl. Bd. LXIX, 1897, p. 46); Kieselablag. (B. d. d. b. G. Bd. XV, 1897, p. 136); Z. Kenntn. d. Bierhefe (Biol. Zentr. Bd. XVIII, 1898, p. 305). — Küster, W. v., Ölkörp. d. Lebermoose (Diss. Basel 1894).

Lafar, Fr., Handb. d. techn Mykol. (Jena 1905). — Lagerheim, G., Techn. Mitt. (Diese Zeitschr. Bd. XIV, 1897, p. 350); Pollenunters. (Bot. Not. 1901, p. 75); Anwend. v. Jodmilchs. etc. (Svensk. Farmac. Tidokr. Bd. V, 1901). — Leblanc, A., vgl. Janssens, Fr. A. — Lemaire, A., Rech. microch. s. la gaine de qu. Schizoph. (J. de B. Bd. XV, 1901, p. 255). — Lewinson, J., Z. Meth. d. Fettfärb. (Diese Zeitschr. Bd. XVII, 1900, p. 321). — Lidforss, B., Wirkungssph. d. Glykose- u. Gerbstoffreag. (Lunds Univ. Arsskr. Bd. XXVIII, 1892); Biol. d. Pollens. (Pr. Jb. Bd. XXIX, 1896, p. 1); Inhaltsk. b. Potamog. prael. W. (B. Zbl. Bd. LXXIV, 1898, p. 305). — Lilienfeld, L. u. Monti, A., Mikroch. Lokalis. d. Phosph. (Z. f. ph. Ch. Bd. XVII, 1892, p. 410). — Lindner, Schizosacch. octosp. (Zbl. f. Bakt. Bd. II, Abt. 2, p. 537). — Lohmann, C. E. J., Beitr. z. Chem. u. Biol. d. Lebermoose (Diss. Jena 1903). — Longo, B., Beitr. z. Chromatolyse d. Zellk. (Ann. di Roma Bd. IX, 1899, p. 89). — Love, E. G., Stain. of cell. (Journ. New York Microsc. vol. X, 1895, p. 70). — Loew, O., Asparagin i. pflanzenchem. Bezieh. (Chem. Ztg. Bd. XX, 1896, No. 16); Natürl. Syst. d. Giftwirk. (München 1893). — Loew, O., u. Bokorny, Th., Z. Chem. d. Proteosomen (Fl. Ergbd. 1892, p. 117). — Lundie, A., Not. on micro-methods (Transact. Edinburgh vol. XXI, 1900, p. 159). — Lütkemüller, J., Zellmembr. d. Desmid. (Cohns Beitr. Bd. VIII, 1902, p. 347). — Lutz, L., Gommose d. l. Acacias (Bull. de France 1895, p. 467).

Macallum, A. B., Cytology of non-nucleated org. (Transact. Canadian Inst. vol. VI, 1899, p. 439); Distrib. of assimilated iron compounds etc. (Quart. Journ. Microsc. vol. XXXVIII, 1895, p. 175). — Magnus, W., Endotr. Mykorrh. v. Neottia (Pr. Jb. Bd. XXXV, 1900, p. 205). — Manea, A., Acid. gallotann. et digall. (Thèse Genève 1904). — Mangin, L., Observ. s. l. membr. cellul. (C. R. vol. CXIII, 1891, p. 1069); Constit. d. cystolith. etc. (C. R. vol. CXV, 1892, p. 260); Empl. du rouge de ruthén. (C. R. vol. CXVI, 1893, p. 653); Propriétés et réact. d. comp. pect. (J. de B. 1892, p. 206); Observ. s. l'assise à mucilage de la graine de lin (Bull. de France 1893, p. 119); Observ. s. l. prés. de la callose ch. l. Phan. (Bull. de France 1892, p. 260); Rech. anat. s. l. Péronosp. (Nat. Autun T. VIII, 1895, 56 pp.); Observ. s. l. membr. d. Mucorin. (J. d. B. vol. XIII, 1899, p. 209). — Mann, G., Behandl. d. Nervenzellen f. exp.-hist. Unters. (Diese Zeitschr. Bd. XI,

1894, p. 479). — Marpmann, G., Mikroch. Nachw. d. Oxycarbons., Galluss. u. d. Gerbs. (Z. f. ang. M. Bd. VI, 1900, p. 6); Hefen u. üb. d. Zellk. b. Sacchar. u. Bakt. (Zbl. f. B. Bd. IX, Abt. 2, 1902, p. 357); Hausschwamm (ibid. Bd. VII, 1901, p. 775); Unters. u. Färb. d. lebend. u. abgestorb. Zellen u. Gew. (Z. f. ang. Mikr. Bd. I, 1896, p. 321, 353); Mikr. u. mikroch. Unters. v. techn. Stoff. (ibid. Bd. V, 1889, p. 11); Färbungsmeth. f. Nucl. u. Paranucleïnsubst. (ibid. Bd. VIII, 1903, p. 314). — Massart, J., Rech. s. l. organismes infér. V. (Mém. cour. et autres mém. vol. LXI, 1901). — Matruchot, L., Méthode de color. du protopl. p. l. pigm. bact. (C. R. vol. CXXVII, 1898, p. 830); Méthode de color. d. protopl. p. l. p. d. champ. (ibid. p. 881). — Mäule, C., Verh. verholzt. Membr. geg. Kaliumpermang. (Beitr. z. w. B. Bd. IV, 1900, p. 176). — Mertens, Ad., vgl. Janssens, Fr. A. — Mesnard, E., Rech. s. l. mode d. prod. d. parf. dans l. fleurs. (C. R. vol. CXV, 1892, p. 892); Rech. s. l. loc. d. huiles grasses d. l. germ. etc. (ibid. vol. CXVI, 1893, p. 111). — Meyer, A., Ref. üb. Molisch, H., Die Pfl. in ihr. Bezieh. z. Eisen (Fl. Ergbd. 1892, p. 292); Üb. Geißeln, Reservest. etc. d. Bakt. (Fl. Bd. LXXXVI, 1899, p. 428); Notiz üb. d. Verh. d. Sporen u. Fetttropf. d. Bakt. etc. (Zbl. f. B. u. P. Bd. XXIX, Abt. 1, 1901, p. 809, 810); Üb. Chlamydosp. u. üb. s. m. Jod blaufärb. Zellmembr. d. Bakt. (ibid. Bd. VII, Abt. 2, 1901, p. 925); Naphtholblau a. Reag. f. Bakt. (ibid. Bd. XXXIV, Abt. 1, 1904, p. 578); Untersuch. üb. Stärkek. (Jena 1895); Orient. Unt. üb. Verbr., Morphol. u. Chem. d. Volutins (Bot. Ztg. Bd. LXII, 1904, p. 113). — Michaelis, L., Üb. Fettfarbst. (Virch. Arch. Bd. CLXIV, 1901, p. 263); Theorie d. Fettfärb. (Med. Wochenschr. Bd. XXVII, 1901, p. 759). — Miehe, H., Üb. Wand. d. pfl. Zellk. (Flora Bd. LXXXVIII, 1901, p. 105). — Miyoshi, M., Üb. d. Chemotropismus d. Pilze (Bot. Ztg. 1894, p. 1). — Mitrophanow, P., Beobacht. üb. d. Diat. (Fl. Bd. LXXXV, 1898, p. 293). — Möbius, M., Wachsaussch. i. Inn. v. Zellen (B. d. d. b. G. Bd. XV, 1897, p. 435); Anthophäin (ibid. Bd. XVIII, 1900, p. 341). — Molisch, H., Pfl. i. ihr. Bezieh. z. Eis. (Jena 1892); Bemerk. z. J. H. Wakkers Arb. „Neuer Inhaltsk. d. Pflanzenz." (B. d. d. b. G. Bd. IX, 1891, p. 270); Nachw. v. mask. Eisen (ibid. Bd. XI, 1893, p. 73—75); Vork. u. Nachw. d. Indicans etc. (Sb. Wien Bd. CII, 1893, p. 269); Physiol. d. Pollens (ibid. Abt. 1, p. 423); Phykoërythrin etc. (Bot. Ztg. 1894, p. 177); Phykocyan etc. (ibid. 1894, p. 131); Kristallis. u. Nachw. d. Xanthophylls etc. (B. d. d. b. G. Bd. XIV, 1896, p. 18); Neue mikroch. Reakt. a. Chloroph. (ibid. p. 16); Zellk. bes. Art (Bot. Ztg. Bd. XVII, 1899, p. 177); Bot. Beob. a. Java IV üb. Pseudoind. etc. (Sb. Wien Bd. CVIII, Abt. 1, 1899, p. 479); Vork. v. Indican i. Chlorophyllk. (B. d. d. b. G. Bd. XVII, 1899, p. 228); Indigo (Wiesners „Rohstoffe", 2. Aufl. 1900); Stud. üb. Milch- u. Schleimsaft b. Pfl. (Jena 1901); Üb. vorübergeh. Rotfärb. d. Chlorophyllk. etc. (B. d. d. b. G. Bd. XX, 1902, p. 443); Sog. Gasvak. etc. (Bot. Ztg. 1903, p. 47); I. Üb. d. braun. Farbst. d. Phäoph. u. Diat., II. Üb. amorph. u. kristall. Anthokyan (ibid. 1905, p. 131, 145). — Molisch, H., u. Goldschmiedt, G., Scutellarin etc. (Sb. Wien Bd. CX, Abt. 1, 1901, p. 185). — Molle, Ph., Localis. d. alcal. d. l. Solan. (Bull. Soc. Belge Micr. vol. XXI, 1895, p. 8); Rech. de microch. comp. (Mém. cour. Acad. Belg. 1895); Alcal. d. Clivia miniata Berth (Ann. Soc. Sc. Méd. et Nat. Brux. vol. XI, 1902, fasc. 3). —

Möller, H., Vork. v. Phlorogl. (B. d. d. pharm. Ges. Bd. VII, 1897, p. 344). — Monteverde, N. A., Verbreit. d. Mannits u. Dulcits (vgl. d. Zeitschr. Bd. IX, 1892, p. 544). — Monti, A., vgl. Lilienfeld. — Moore, S., Microch. react. of tann. (J. R. M. 1891, p. 832); React. of callus and parac. (ibid. 1892, p. 711). — Müller, C., Unt. üb. d. Nachw. mask. Eisens etc. (B. d. d. b. G. Bd. XI, 1893, p. 252).

Naumann, O., Gerbst. d. Pilze (Diss. Erlangen 1895). — Nawaschin, S., Bau u. Umw. v. Plasmodioph. (Fl. Bd. LXXXVI, 1899, p. 404). — Němec, B., Percept. d. Schwerkraftreiz. (B. d. d. b. G. Bd. XX, 1902, p. 339); Reizleit. u. d. reizl. Strukt. b. Pfl. (Jena 1901). — Nestler, A., Schleimz. d. Laubbl. d. Malvac. (Ö. b. Z. 1898, p. 94); Blasenz. v. Antithamnion (Wiss. Meeresu. Bd. III, N. F., 1898); Sekrettr. an d. Laubbl. v. Phaseolus etc. (B. d. d. b. G. Bd. XVII, 1899, p. 332); Nachw. d. Cumarins u. Theïns d. Sublimation (ibid. Bd. XIX, 1901, p. 350); Gift. Primeln (Berlin 1903). — Neukirch, H., Strahlenpilze [2. Flg.] (Straßburg 1902). — Newcombe, F. C., Cellul.-enz. (Ann. of Bot. vol. XIII, 1899, p. 49). — Noack, F., Schleimrank. i. d. Wurzelintercell. einig. Orch. (B. d. d. b. G. Bd. X, 1892, p. 645). — Noll, F., Geformt. Proteïde im Zells. v. Derbesia (ibid. Bd. XVII, 1899, p. 302).

Obach, Eug., Guttapercha (Dresden 1899). — O'Brien, M., Proteids of wheat (Ann. of Bot. vol. IX, 1895, p. 172). — Oltmanns, F., Sexualorg. b. Coleochaete. (Fl. Bd. LXXXV, 1898, p. 1). — Omelianski, W., Kreisl. d. Schwefels (Lafar Bd. III, 1905, p. 233). — Oppenheimer, C., Fermente (Leipzig 1900). — Overton, E., Auftr. v. rot. Zells. (Pr. Jb. Bd. XXXIII, 1899, p. 171); Aufn. d. Anilinfarb. d. d. leb. Zelle (ibid. Bd. XXXIV, 1899, p. 669).

Palla, E., Neues Organ d. Conjug.-Zelle (B. d. d. b. G. Bd. XII, 1894, p. 153). — Pantanelli, E., Albinismus (Malp. Bd. XV, 1902, p. 363). — Parmentier, P., Rech. morph. s. l. pollen d. Dialypétales (J. d. B. vol. XV, 1901, p. 150). — Petit, P., Distribution et état du fer dans l'orge (C. R. vol. CXV, 1892, p. 246); Procéd. de color. etc. (Amis d. Rouen 1903). — Pfeiffer, H., Neue Doppelf. f. Gew. m. teilw. verholzt. Gew. (Diese Zeitschr. Bd. XIV, 1897, p. 202). — Pfeffer, W., Ölkörp. d. Lebermoose (Fl. Bd. LVII, 1874, p. 2). — Petri, L., Strutt. del nucl. (N. D. Bol. Ital. vol. XI, 1904, p. 394). — Plancken, J. v. d., et Biongre, Ph., Miellée du hêtre rouge (Cellule t. XI, 1896, p. 371). — Plato, H., u. Guth, H., Nachw. fein. Wachstumsvorg. i. Trichophyt. etc. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. XXXVIII, 1901, p. 319). — Poirault, G., vgl. Belzung, E. — Pollacci, G., Verteil. d. Phosph. etc. (Malp. Bd. VIII, 1894); Mikroch. Prüf. a. P. etc. (ibid. Bd. IX, 1895, p. 370; Atti R. Inst. Bot. del Univ. di Pavia t. V, n. s., 1898 u. t. VI, 1900, p. 15); Üb. d. Vork. d. Formaldehyds i. d. Pflanz. (ibid. 1899, p. 45); Migl. met. di ric. microch. del Fosf. etc. (ibid. vol. X, 1904, p. 16). — Pozzi-Essot, M. E., Rech. microch. d. alcal. (C. R. t. CXXXI, 1901, p. 1062). — Pröscher, F., Unters. üb. Raciborkis Myriophyllin (B. d. d. b. G. Bd. XIII, 1895, p. 345). — Prowazek, S., Synedra hyalina etc. (Ö. b. Z. Bd. L, 1900, p. 69); Vitalfärb. a. Bakt. (Z. f. ang. M. Bd. VI, 1900, p. 141).

Raciborski, M., Krit. Ref. üb. Lilienfeld u. A. Monti etc. (Bot. Ztg. 1893, p. 245); Inhaltsk. d. Myrioph. trich. (B. d. d. b. G. Bd. XI, 1893, p. 348); Inhaltsk. d. Leptoms (ibid. Bd. XVI, 1898, p. 52); Weitere Mitteil. üb. d. Leptomin (ibid. p. 119); Demonstr. v. m. Lept. (Fl. LXXXV, 1898, p. 36). — Radlkofer, L., Tonerdek. i. Pflanzenz. (B. d. d. b. G. Bd. XXII, 1904, p. 216). — Ráthay, E., Auftr. v. Gummi in d. Rebe etc. (Jahresb. d. k. k. önol. u. pom. Lehranst. Klosterneuburg 1896). — Re, L, Üb. d. Vork. v. Sphäriten b. Agave am. (Ann. di Roma vol. V, p. 38). — Rechinger, K., Trichom. d. Gesneriac (Ö. b. Z. Bd. V, p. 89 ff.). — Reinbold, B., Molisch-Udránszkysche α-Naphthol-Schwefels. Reakt. (A. ges. Ph. Bd. CIII, 1904, p. 581). — Reinke, J., u. Braunmüller. E., Einfl. d. Licht. a. d. Gehalt gr. Bl. a. Aldehyd (B. d. d. b. G. Bd. XVII, 1899, p. 7). — Reissert, A., Gesch. u. Syst. d. Indigosynth. (Berlin 1898). — Retgers, J W., Künstl. Färb. v. Krist. org. Körp. mitt. org. Farbst. (Z. f. ph. Ch. Bd. XII, 1893, p. 600). — Richter, O., Neues Mazerationsmittel f. Pflanzengew. (Ö. b. Z. Bd. LV, 1900, p. 5); Mikroch. Nachw. d. Kobalts a. Ammonium-Kobaltphosphat (Tschermaks min. u. petrog. Mitt. Bd. XX, 1901, p. 99); Beitr. z. K. d. Magnesium-Ammonium-Phosphats $Mg(NH_4)PO_4\ 6OH_2$ (ibid. p. 89); Mg i. sein. Bez. z. Pfl. (Sb. Wien Bd. CXI, Abt. 1, 1902, p. 171). — Riedel, P., Pflanzl. Amyloïd (Diss. Berlin 1897). — Riegler, E, Zuckerp. m. oxals. Phenyllhydr. (D. med. Wochenschr. Bd. XXIX, 1903, No. 15). — Rosenberg, O., Verw. v. Prodig. (Diese Zeitschr. Bd. XV, 1898, p. 56); Unt. üb. Drosera rotundif. L. (Upsala Univ. 1899). — Rosenstiehl, A., Action d. tannins et des mat. color. s. l'act. d. lev. (C. R. t. CXIX, 1902, p. 134). — Rosenthal, W., Nachw. v. Fett d. Färb. (Verh. d. d. Pathol. Ges. München Bd. II, 1899, p. 440). — Rosoll, A., Nachw. d. Curcumins u. Coniins (Niederöst. Landes-Ob.-Realsch. 29. Jb., 1894, p. 1). — Rothert, W., Gallen d. Rotatorie Notommata Werneckii (Pr. Jb. Bd. XXIX, 1896, p. 525); Bem. z. A. Meyers „Unters. üb. d. Stärkek." (B. d. d. b. G. Bd. XV, 1897, p. 231); Kristallz. v. Pontederiaceae (Bot. Z. Bd. LVII, Abt. 2, 1900, p. 75); Membr. d. pflzl. Gef. (W. Krakowie 1899). — Rothert, W., u. Zaleński, W., Bes. Kateg. v. Kristallbeh. (B. Zbl. Bd. LXXX, 1899, p. 1). — Roulet, Ch., Nouv. proc. de double col. de membr. (Arch. d. sc. phys. et nat. Genève Pèr 3 vol. XXIX, 1893, p. 100). — Rumpf, G., Rhizod., Hypod. u. Endodermis d. Farnwurz. (Bibl. Bot. 1904, p. 62). — Russel, N. W., Localis. de la Taxine (Assoc. Montauban 31. sess. 1902, p. 693). — Russow, E., Auskl. d. Interzell. (Sb. Dorpat Bd. VII, 1884, H. 1).

Saito, Stud. üb. wicht. Faserpfl. Jap. etc. (J. Coll. of Tokyo vol. XV, 1901, p. 395). — Salter, J. H., Kenntn. d. Stärkek. (Pr. Jb. Bd. XXXII, 1898, p. 116). — Schaar, F., Bau u. Art d. Entleer. Antherid. v. Polytr. (B. d. d. b. G. Bd. XV, 1897, p. 479). — Schaffner, J. H., Perm. stain f. starch (J. a. Micr. vol. I, 1898, p. 181). — Schellenberg, H., Z. Kenntn. d. verh. Zell. (Pr. Jb. Bd. XXIX, 1896, p. 237); Hemicellulosen etc. (B. d. d. b. G. Bd. XXIII, 1905, p. 36). — Schimper, A. F. W., Anleit. z. mikr. Unters. d. veg. Nahrungs- u. Genußm. 2. Aufl. (Jena, 1900). — Schips, K., Cuticula u. d. Auskl. d. Interzell. etc. (B. d. d. b. G. Bd. XI, 1893, p. 311); Eigenart. Cuticularbild. (Beitr. z. Morph. u. Phys. v. Pflanzenz. 1893, H. 3, p. 318). — Schlagdenhauffen, Fr., vgl. Heckel, E. — Schlockow, A.,

Anat. d. braun. Bl. (Diss. Heidelberg 1903). — Schmidle, W., Algen a. preuss. Hochmoor. (Hedw. Bd. XXXVIII, 1899, p. 156); Befrucht., Keim- u. Haarins. v. Batrachosp. (Bot. Ztg. Bd. LVII, 1899, p. 125). — Schmied, H., Karotin i. d. Wurz. v. Dracaena etc. (Ö. b. Z. Bd. LIII, 1903, p. 313). — Schoorl, N., Eine mikroch. Reakt. a. Atropin. (Z. f. ang. M. Bd. VII, 1901, p. 113). — Schorstein, J., Z. Biochemie d. Holzpilze (C. f. B. u. P. Bd. IX, Abt. 2, 1902, p. 446). — Schröder, B., Chem. Verwandtsch. d. tier. Mucine m. d. pflanzl. Pekt. (Beitr. z. B. Zbl. Bd. X, 1901, p. 122); Gallertb. d. Alg. (Verh. d. Naturh. Med. Ver. Heidelberg Bd. VII, N. F., 1902, H. 2). — Schrötter, H. v., Farbst. d. Arillus v. Afzelia etc. (Sb. Wien Bd. CII, Abt. 1, 1893, p. 381). — Schulze, E, Verbreit. d. Glutamins etc. (B. d. d. ch. G. Bd. XXIX, 1896, p. 12). — Schütt, F., Centrif. Dickenw. d. Membr. etc. (Pr. Jb. Bd. XXXIII, 1899, p. 594); Centrif. u. simult. Membranverdick. (ibid. Bd. XXXV, 1900, p. 470); Porenfrage d. Diat. (B. d. d. b. G. Bd. XVIII, 1900, p. 202). — Schwabach, E., Harzabscheid. in Conif.nadeln (B. d. d. b. G. Bd. XVII, 1899, p. 291). — Senn, G., Ein. kolonieb. einz. Algen (Bot. Ztg. Bd. LXVII, 1899, p. 39). — Shaw, N., Fertilis. of Onoclea (Ann. of Bot. vol. XII, 1898, p. 261). — Shibata, K., Wachstumsgesch. d. Bambus. (Journ. Coll. of Sci. Tokyo vol. XIII, 1900, p. 427); Amidabspalt. Enz. b. Pilz. (Chem. Phys. u. Path. Bd. V, 1904, p. 384); Cytol. Stud. üb. d. endotr. Mykorrh. (Pr. Jb. Bd. XXXVII, 1902, p. 643). — Siim-Jensen, J., Bot. u. pharmak. Kenntn. v. Hyoscyamus n. (Bibl. Bot. 1901, H. 51). — Spazier, W., Auftret. u. phys. Bedeut. d. Myrosins (Pr. Jb. Bd. XXV, 1893, p. 39). — Sperlich, A., Inhaltsst. i. d. Saugorg. d. grün. Rhinant. (Beih. z. B. Zbl. Bd. XI, 1902, p. 437). — Starke, J., Prét. exist. de solanine d. l. gr. d. tabac (Bull. Class. Sc. Ac. R. d. Belg. 1902, p. 379). — Strasburger, E., Bot. Prakt., 3. Aufl., Jena 1897. — Suzuki, Lokalis. d. Theïns i. d. Teebl. (Z. f. N. u. G. 1902).

Tichomirow, Wl., Inclusions intracell. etc. (C. R. t. CXXXIV, 1904, p. 305). — Tiemann u. Haarmann, Coniferin u. s. Umwandl. i. d. arom. Prinz. d. Vanille (B. d. d. b. G. Bd. VII, 1874, p. 608). — Tischler, G., Verwandl. d. Plasmastränge i. Cellulose i. Embryos b. Pedicular. (Ber. d. Phys. Ökon. Ges. Königsberg 1899). — Tison, A., Meth. nouv. de col. d. tiss. sub. (C. R. l'Assoc. Franç. p. l'Avanc. d. Sc. 1899, p. 454); Cicatr. d. tissus sécrét. d. l. bless. d. pl. (Bull. Soc. Linn. Caen t. VIII, 1904). — Tompa, A. v., Zwei bot. Tinktionsmeth. (Diese Zeitschr. Bd. XX, 1903, p. 24—28). — Toni, G. B. de, Vorl. histoch. Unters. üb. d. Tabakpflanze, Lokalisat. d. Nikotins (Atti del. R. Ist. Veneto de Sc. lett. ed arti, ser. 7, vol. IV, 1893, p. 17). — Traverso, G. B., vgl. Buscalioni, L. — Treub, M., Localis. etc. de l'ac. cyanhydr. (Ann. Jard. Buitenz. vol. XIII, 1895, p. 1); Nouv. Rech. s. le rôle de l'ac. cyanhydr. etc. (ibid. Sér. 2, T. IV, p. 86). — Trotter, A., Secretor. Syst. einig. prosopl. Gew. (Ann. di Bot. vol. I, 1903). — Tschirch, A., Einw. d. Fr. Schwabach g. m. Theorie d. Harzbild. (B. d. d. b. G. Bd. XIX, 1901, p. 25); Bild. v. Harzen u. äther. Öl. (Pr. Jb. Bd. XXV, 1893, p. 370). — Tschirch, A., u. Kritzler, H., Mikrochem. Unters. üb. d. Aleuronk. (Ber. d. d. pharm. G. Bd. X, 1900, p. 214). — Tswett, M., Ét. de phys. cell. (Arch. d. Sc. phys. et nat. vol. CI, 1896, p. 336); Chloroglobin (B. Zbl. Bd. LXXXI, 1900, p. 81). — Tubeuf, C. v., Holzzerstör. Pilze etc. (Lafar 1905).

Uhlmann, W., Entsteh., Vork. u Nachw. d. fett. Öl. etc. (Diss. Zürich 1902); vgl. Hartwich, C.

Vanderlinden, E., Rech. microch. s. l. prés. d. alcal. etc. (Ann. Soc. Roy. d. Sc. Bruxelles T. X, 1901, fasc. 1). — Verschaffelt, E., React. permett. de déceler l'indol d. l. parf. d. fleurs. (Rec. d. trav. bot. Néerl. T. I, 1904, p. 120). — Vidal, L., Subst. pect. d. la rac. d. Equis. (J. d. B. T. X, 1896). — Vinassa, E., Mikrosk. Mehlunters. (Z. f. Nahrungsm. Bd. IX, 1895, p. 53). — Voß, W., Schnallen u. Fus. b. v. Ured. (B. d. d. b. G. Bd. XXI, 1903, p. 366). — Vuillemin, P., Rech. morph. etc. s. la membr d. Zygosp. (Ann. myc. T. II, 1904, p. 483).

Walliczek, H., Membranschl. veg. Org. (Pr. Jb. Bd. XXV, 1893, p. 208). — Wallin, G. S., Gerbstoffähnl. Tröpfch. i. Zellsafte d. Brom.-Bl. (B. Zbl. Bd. LXXV, 1898, p. 323). — Wasielewski, Waldemar v., Fixierungsflüssigk. i. d. bot. Mikrot. (Diese Zeitschr. Bd. XVI, 1899, p. 303). — Weber v. Bosse, A., Algues d. l'Archip. Malaisien II (Ann. Jard. Buitenz. T. VIII, 1890, p. 165). — Wehmer, C., Charakterist. d. citronens. Kalk. etc. (B. d. d. b. G. Bd. XI, 1893, p. 333). — Weigert, L., Beitr. z. Chem. d. rot. Pflanzenfarbst. (Jb. 1894/95 önol. u. pom. Lehranst. z. Klosterneuburg). — Weinzierl, Th. v., Verbreit. d. Phloroglucins i. Pflanzenr. (Ö. b. Z. Bd. XXVI, 1876, p. 285). — Went, F. A., Schwefelkohlenstoffbild. d. Schizophyllum lob. (B. d. d. b. G. 1896, p. 158; Ref. C. f. B. u. P. Bd. II, Abt. 2, 1896, p. 528). — Weselsky, P., Nachw. d. Phlorogl. u. d. salpetrigs. S. (B. d. d. ch. G. Bd. IX, 1876, No. 3). — Wèvre, A. de, Rech. techn. microch. d. albumin. (Bull. de la Soc. Belge de Microsc. T. XX, 1894, p. 91); Local. d. l'Atropin; Alkal. d. narcisses (ibid. 1887). — Weevers, Th., Phys. Bedeut. einig. Glykoside (Pr. Jb. Bd. XXXIX, 1903, p. 229). — Wieler, A., Pneumath. u. Aerench. (Pr. Jb. Bd. XXXII, 1898, p. 503); Gummos. Verstopf. d. serehkr. Zuckerr. (Beitr. z. w. B. Bd. II, 1897, p. 67). — Wiesner, J., Rohstoffe d. Pflanzenr. (Leipzig 1900); Einleit. in d. techn. Mikr. etc. (Wien 1867); Mikrosk. Nachw. d. Kohle etc. (Sb. Wien Bd. CI, Abt. 1, 1892, p. 379). — Wildemann, E. de, Alcal. d. qu. orch. (Bull. Soc. Belge Micr. vol. XVIII, 1892, p. 101). — Wille, N., Phys. Anat. d. Lamin. (Christiania 1897); Gasvak. b. e. Bakt. (Biol. Zbl. 1902, p. 257). — Winterstein, E., Pilzzellulose (B. d. d. b. G. Bd. XI, 1893, p. 520). — Wisselingh, C. van, Lamelle subér. etc. (Arch. Néerland. 2. Sect. 1892, No. 1); Cuticularis. et la cutine (ibid. t. XXVIII, 1895, p. 373); Band. d. Ombellif. (ibid. XXIX, 1895, p. 199); Mikroch. Unters. üb. d. Zellw. d. Fungi (Pr. Jb. Bd. XXXI, 1898, p. 619); Nucleolus v. Spirog. etc. (Bot. Ztg. Bd. LVI, 1898, p. 196); Kerngerüst (ibid. Bd. LVII, 1899, p. 155); Kernteilung b. Spirog. (Flora Bd. LXXXVII, 1900, p. 355); Unters. üb. Spirog. 4. Beitr. (Bot. Ztg. Bd. LX, 1902, p. 115); Abnorm. Kernteil., 5. Beitr. (ibid. Bd. LXI, 1903, p. 201). — Wittlin, J., Bild. d. Kalkoxalttaschen (B. Zbl. Bd. LXV, 1896, p. 33). — Wurster, Eiweiß- u. Tyrosinreakt. (Zbl. f. Phys. 1887, No. 9).

Yendo, K., Corall. verae japon. (J. Coll. Tokyo vol. XVI, 1902); Genicula of Corallinae (ibid. vol. XIX).

Zacharias, E., Mikroch. Untersuchungsmeth. (B. d. d. b. G. Bd. XIV, 1896, p. 270) Nachw. u. Vork. v. Nukleïn (ibid. Bd. XVI, 1898, p. 185);

Cyanophyceen (Abh. a. d. Geb. d. Naturw. Hamburg Bd. XVI, 1900, No. 2); Beitr. z. K. d. Sexualz. (B. d. d. b. G. Bd. XIX, 1901, p. 377); Achrom. Bestandt. d Zellk. (ibid. Bd. XX, 1902, p. 298). — Zalewski, A., Schönnetts Resinocyst. (B. Zbl. Bd. LXX, 1897, p. 50). — Zetzsche, F., Unters. d. verh. Membr. (Z. f. a. M. Bd. II, 1896, p. 225). — Zimmermann, A., Morph. u. Phys. d. pflanzl. Zellk. (Jena 1896); Mikroch. Reakt. v. Kork u. Cut. (Diese Zeitschr. Bd. IX, 1892, p. 58); Tinkt. Verh. d. Zellkernkristalloïde (ibid. Bd. X, 1893, p. 211); Chem. Zusammensetz. d. Zellk. I. (ibid. Bd. XII, 1895, p. 458); Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Pflanzenz. Stuttg. 1890—1893.

[Eingegangen am 4. Juni 1905.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Möller, J., Mikroskopie der Nahrungs- und Genußmittel aus dem Pflanzenreich. Berlin (Jul. Springer) 1905; XVI u. 599 pp., 599 Figg. 2., gänzl. umgearb. u. unter Mitwirkung A. L. WINTONS vermehrte Aufl. 18 M.

Die zweite Auflage des bekannten, anerkannten Handbuchs weist gegenüber der ersten zahlreiche wichtige Verbesserungen auf. Viele Kapitel haben textlich starke Veränderungen und Ergänzungen erfahren, die Disposition ist vielfach (z. B. in den Kapiteln Stärke, Mehl und Mahlprodukte, Früchte und Samen) vorteilhaft geändert worden. Besondere Anerkennung verdient der reiche Schatz an Illustrationen: die Autophotogramme sind sehr wohlgelungen und der zeichnerische aus WINTONS Originalabhandlungen her bekannte Stil seiner Textfiguren bewährt sich auch hier.

Die Einleitung handelt von Präparation, Reagentien, von Messen und Zeichnen. Es folgen Besprechungen der Blätter und Kräuter, Blüten, Stärke, Mehl und Mahlprodukte, Früchte und Samen, Hölzer, Rinden, unterirdische Pflanzenteile, Pilze, Algen und Flechten.

Küster (Halle a. S.).

Senft, E., Mikroskopische Untersuchung des Wassers mit bezug auf die in Abwässern und Schmutzwässern vorkommenden Mikroorganismen und Verunreinigungen. 180 Figg. im Text u. 10 lithogr. Tfln., 196 pp. Wien (Jos. Šafář) 1905. 9·60 M.

Der allgemeine Teil gibt eine Schilderung von Mikroskop- und Nebenapparaten und einige Winke für Sammeln, Aufbewahren und Untersuchung der Wasserproben und behandelt die saproben Organismen und die Selbstreinigung des Wassers. Der spezielle Teil behandelt die im verunreinigten Wasser auftretenden anorganischen Bestandteile und die in ihm enthaltenen Bakterien, Pilze, Algen, Protozoën, Würmer und Arthropoden. Die zahlreichen Textabbildungen und besonders die sauber ausgeführten farbigen Tafeln werden das Buch zur Bestimmung der in Frage kommenden Lebewesen geeignet machen. *Küster (Halle a. S.).*

Merck, E., Prüfung der chemischen Reagentien auf Reinheit. Darmstadt 1905; 281 pp.

Das treffliche, sehr übersichtlich angelegte Nachschlagebuch sei auch an dieser Stelle empfohlen, da unter den in ihm behandelten Stoffen zahlreiche für mikroskopische Färbungen und mikrochemische Reaktionen wichtige sich befinden. *Küster (Halle a. S.).*

2. Mikrophotographie und Projektion.

König, E., Über Badeplatten (Photogr. Korrespond. Bd. XLII, 1905, p. 399—406).

Da bekanntlich die durch Baden farbenempfindlich gemachten Platten den in der Emulsion gefärbten an Empfindlichkeit überlegen sind, scheint es in gewissen Fällen öfters geboten, sich orthochromatische Platten durch Baden selbst herzustellen. Man pflegt den Sensibilisierungsbädern Ammoniak zuzusetzen, was auch bei einigen Farbstoffen durchaus erforderlich ist, um eine nennenswerte Sensibilisierung zu erhalten. In vielen Fällen wirkt aber Ammoniakzusatz geradezu schädlich. Den schlechten Ruf, zur Sensibilisierung mit Isocyaninen nicht geeignet zu sein, weil Neigung zur Schleierbildung eintritt, verdanken gewisse Plattensorten auch nur dem Ammoniakzusatz. Verf. konnte durch zahlreiche Versuche nachweisen, daß alle jene Plattensorten monatelang tadellos klar arbeitend bleiben, wenn in neutraler Lösung sensibilisiert wird. Die Empfindlichkeit der mit Orthochrom oder Pinachrom in neutraler Lösung sensibilisierten Platten ist bei praktischen Dreifarbenaufnahmen in der

Kamera hinter Grünfilter gleich, hinter Rotfilter etwa $^1/_5$ der der ammoniakalisch sensibilisierten. Verf. empfiehlt demnach bei Anwendung von Pinachrom oder Orthochrom die Platten im Dunkeln 2 bis 3 Minuten lang in 200 cc Wasser + 3 bis 4 cc Farblösung 1 : 1000 zu baden, dann etwa 2 Minuten zu waschen und schließlich zu trocknen. Ein besonders rasches Trocknen durch starken Luftzug ist nicht erforderlich; die Platten schleiern auch bei freiwilligem Trocknen nicht. Ein weiterer Vorteil des ammoniakfreien Sensibilisierungsbades besteht darin, daß man zum Verdünnen der Farblösung gewöhnliches Brunnenwasser nehmen kann. Die unzweifelhaft günstige Wirkung des Waschens der gebadeten Platten besteht nach Ansicht des Verf. lediglich darin, daß die anhängende Farblösung, die leicht in Flecken und Streifen auf den Platten eintrocknen würde, entfernt wird. Da durch bloßes Abspülen die anhängende Farblösung nicht genügend entfernt werden kann, weil das etwas alkoholhaltige Farbbad nicht sofort gleichmäßig durch das Wasser verdrängt wird, muß man deshalb so lange waschen, bis die sogenannten Fettstreifen verschwunden sind. Verf. weist hierbei noch auf die vielleicht nicht allgemein bekannte Tatsache hin, daß diese Fettstreifen nicht oder doch nur in ganz geringem Maße auftreten, wenn man zum Lösen der Farbstoffe nicht den gewöhnlichen Äthylalkohol, sondern Methylalkohol verwendet. Besonders auffällig zeigt sich die Wirkung des Ammoniaks bei den Schleussner-Platten, die nach dem Sensibilisieren im ammoniakalischen Pinachrombade meist schleiern, jedoch vorzügliche Resultate geben und monatelang haltbar bleiben, wenn man sie ohne Ammoniak sensibilisiert. Die neue Spezialrapidplatte ist besonders gut geeignet. — Daß Cyanin gewöhnlich als ein Sensibilisator gilt, der außer andern Untugenden die Allgemeinempfindlichkeit ganz außerordentlich herabsetzt, hat seinen Grund darin, daß gewöhnlich unreine Farbstoffe verwandt wurden. Die mit sorgfältig gereinigtem Cyanin (Amylcyanin) mit oder ohne Zusatz von Ammoniak sensibilisierten Platten erwiesen sich nach Versuchen des Verf. ohne Filter bei Tageslicht, sowohl im Sensitometer wie in der Kamera nicht merklich unempfindlicher als die ungebadeten Platten.

E. Schoebel (Neapel).

3. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Scholz, F., Über Aceton-Celloïdin-Schnelleinbettung (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXI, 1905, No. 11, p. 419—420).

Die ersten erfolgreichen Versuche, die zur Celloïdineinbettung erforderliche Zeit abzukürzen, rühren, wie Verf. bemerkt, von E. Kaufmann her. Wenngleich die Methode dieses schon eine wesentliche Verbesserung darstellte, so hat Verf. sie jetzt noch erheblich vervollkommnet. Er basierte bei seinen Versuchen auf der Arbeit von Henke und Zeller[1] über „Aceton-Paraffin-Schnelleinbettung". Das Aceton ist ein Körper, der in hohem Grade die Eigenschaft besitzt, Wasser anzuziehen und Eiweißkörper zu fällen, also zu fixieren. Der Preis des Acetons ist allerdings etwas höher (1·25 Mk. per kg) als der des Alkohols, doch besitzt es vor dem letzteren große Vorzüge: 1) Ist die dadurch bewirkte Schrumpfung der Gewebsstücke geringer, 2) läßt sich das Aceton leicht wieder verwenden, sobald man nur in üblicher Weise mittels geglühten Kupfersulfates dafür sorgt, das Wasser wieder daraus zu entfernen. Verf. ist zurzeit imstande mit Hilfe des Acetons von jedem Objekte spätestens innerhalb 24 Stunden schnittfähige Celloïdinblöcke herzustellen. Methode: Die kleinen Gewebsstückchen (nicht dicker als 3 mm) kommen direkt in reines Aceton. Hierbei ist es für den Erfolg gleichgültig, ob sie frisch in dieses eingelegt werden, oder nachdem sie zuvor, z. B. in Formol oder Alkohol gelegen haben. Im Aceton bleiben sie in der Wärme (der Siedepunkt des Acetons liegt bei 56°) eine halbe bis eine Stunde liegen, ohne daß es unbedingt nötig wäre, dasselbe während dieser Zeit zu erneuern. Nach Ablauf dieser Frist sind die Stückchen genügend gehärtet. Meistens werden sie hierauf direkt in dünnes Celloïdin übertragen. Nur für Auskratzungsprodukte und ähnliche Dinge empfiehlt es sich, zwischen Aceton und Celloïdin einen Aufenthalt in Äther-Alkohol von 15 Minuten einzuschieben. Unterläßt man dieses, so vermischt sich trotz sorgfältigen Abgießens leicht das in den Ritzen und Maschen der kleinen Stückchen zurückgebliebene Aceton mit dem Celloïdin zu einer milchig aussehenden Flüssigkeit.

[1]) Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, H. 1.

welche die Härtung verzögert. In der dünnen Celloïdinlösung verbleiben die Stückchen bei 37° bis 40° etwa 4 bis 5 Stunden. Dann setze man etwas dickes Celloïdin zu und gieße die Präparate nach weiteren 2 bis 3 Stunden in dickes Celloïdin so aus, daß dieses sie von allen Seiten eben bedeckt. Unter einer Glasglocke werden die Präparate nun der trocknenden Wirkung von Chloroform ausgesetzt, das man in offenen Schälchen verdampfen läßt. Gewöhnlich schon nach 3 bis 4 Stunden kann man die festgewordene Oberfläche des Celloïdins vom Rande aus loslösen, um die austrocknende Wirkung der Chloroformdämpfe auch den tieferen Schichten der Celloïdinlösung zuzuführen. Dies ist nicht durchaus erforderlich; meist hat sich auch ohne dieses der Celloïdinblock nach 12- bis 14stündigem Aufenthalt unter der Glasglocke zur Knorpelhärte verdichtet. Jetzt kommt der Block zur Nachhärtung für einige Stunden in verdünnten Alkohol. Meist waren Schnitte von 8 bis 10 μ möglich, mindestens solche von 16 μ. — Verf. hat diese Methode mit bestem Erfolge auch bei fetthaltigen Organen versucht, die mit Flemmingscher Lösung fixiert waren. Während bei der bisherigen Äther-Alkoholbehandlung das Fett gelöst wurde, kann man es nach Aceton-Celloïdinbehandlung ebenfalls nachweisen. Bedingung für das Gelingen der Methode ist, daß man 1) tadelloses, wasserfreies Celloïdin zur Verfügung hat; man darf also zur Herstellung der Lösung nur vollkommen wasserfreien Alkohol verwenden, sonst wird das Celloïdin in der angegebenen Zeit nicht hart, sondern bleibt gummiartig, 2) muß das einzubettende Objekt absolut wasserfrei sein.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Sternberg, K., Eine Schnittfärbung nach der Romanowskischen Methode (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 8, p. 293—294).

Seit die Romanowskische Färbung durch Vereinfachung der Methode leicht und sicher ausführbar geworden ist, findet sie immer ausgedehntere Verwendung, da sie für das Studium der Protozoen und für die Blutuntersuchung ganz ausgezeichnete Resultate ergibt. Man hat daher auch schon oft versucht, Schnittpräparate nach dieser Methode zu färben, doch ist dies bisher nicht in genügender Weise gelungen. Nach den Versuchen des Verf. scheint nun für diesen Zweck die „Giemsasche Lösung für Romanowskische Färbung recht empfehlenswert zu sein. Bei Färbung von Ausstrichpräparaten ergibt sie ganz ausgezeichnete Resultate und stellt wohl die einfachste

und brauchbarste unter allen Modifikationen der Romanowskischen Methode dar. Verf. hat diese Lösung in folgender Weise zur Schnittfärbung verwendet: Fixierung der Organstückchen am besten in Alkohol, weniger geeignet ist Sublimat-, Pikrin- oder Formolfixierung. Einbettung in Paraffin und Anfertigung dünner Schnitte von 5 bis 8 μ Dicke. Färbung in der Giemsaschen Lösung, die unmittelbar vor dem Gebrauche ungefähr der Vorschrift Giemsas entsprechend verdünnt wird (etwa 0·4 bis 0·5 cc der Farblösung auf 20 cc gekochten destillierten Wassers; die Mischung wird gut durchgeschüttelt), 20 bis 24 Stunden, abspülen in Wasser, kurze Differenzierung in 0·5prozentiger Essigsäure, wobei bläuliche Wolken abgehen und der Schnitt rötlich wird, abwaschen in Wasser und abtrocknen, kurze Differenzierung und Entwässerung in absolutem Alkohol, wobei die Präparate wieder einen bläulichen Farbenton annehmen, abtrocknen, Xylol, Balsam. Die Resultate waren zufriedenstellend. Sehr schön fielen Schnittfärbungen aus von den Organen solcher Tiere, die mit Trypanosomen infiziert worden waren. Auch Malariaplasmodien in Gehirnschnitten wurden sehr deutlich. Außerdem wurde eine schöne Färbung der verschiedenen Gewebselemente erzielt: Zellkerne (nach Alkoholkonservierung) ebenso wie die Leukocytenkerne in Blutpräparaten, die nach Giemsa gefärbt sind, in verschiedenen Nuancen rot, meist satt dunkelrot. Einzelne Zellkerne (z. B. Leberzellen) zeigen eine zierliche Struktur infolge distinkter Färbung der Kernkörperchen. Besonders macht Verf. auf die Färbung der Ganglienzellen aufmerksam, die ähnliche Bilder darbieten, wie in Nisslpräparaten. Was die Leukocytengranulation anlangt, so sind die eosinophilen und basophilen Granula sehr gut darstellbar, eine Färbung der neutrophilen Granula gelang bisher noch nicht recht. Bisweilen glaubte Verf. in den Leukocyten einzelne Granula zu sehen, die den Wolff-Michaelisschen Azurgranula entsprechen könnten.

Schiefferdecker (Bonn).

Courmont, J., et **André, Ch.,** Technique histologique permettant de déceler sur les coupes les substances du groupe de la Purine, notamment l'acide urique (C. R. Soc. Biol. Paris t. LVII, 1904, p. 131—132).

Das Organ wird in absolutem Alkohol fixiert. Auf die Schnitte läßt man eine Silbernitratlösung einwirken. So erhält man mit zwei Gruppen von Substanzen Niederschläge: 1) Mit Kochsalz: Chlorsilber;

2) mit den Substanzen der Puringruppe, so namentlich mit der Harnsäure: harnsaures Silber. Sowohl das Chlorsilber wie das harnsaure Silber sind in Wasser unlöslich. Behandelt man solche Schnitte mit einem photographischen Entwickler, so werden die Silbersalze reduziert und erscheinen im Schnitte, den man in gewöhnlicher Weise färben kann, als schwarze Körner. Um das Kochsalz zu entfernen, kann man verschiedene Prozesse anwenden: 1) Man bringt die Schnitte nach ihrer Behandlung mit dem Silbernitrate in ammoniakalisches Wasser oder in eine sehr stark verdünnte Lösung von unterschwefligsaurem Natron. Das Chlorsilber löst sich hierbei schneller als das harnsaure Silber, doch muß man sehr vorsichtig operieren. 2) Man bringt die Schnitte vor der Behandlung mit dem Silbernitrate in ammoniakalisches Wasser (einprozentig): das Kochsalz löst sich, die Harnsäure löst sich nicht. Infolge ihrer Erfahrungen raten die Verff. zu folgender Methode: Man fixiert das Organ in absolutem Alkohol oder noch besser mit der Mischung von Carnoy-Sauer. Paraffineinschluß. Die Schnitte kommen, nachdem sie vom Paraffin befreit sind, für eine halbe Stunde in eine einprozentige wässerige Ammoniaklösung, dann in eine einprozentige Silbernitratlösung. Sehr sorgfältiges Auswaschen. Behandlung mit einem photographischen Entwickler. Erneutes Auswaschen. Doppelfärbung (Hämateïn-Eosin oder Bismarckbraun-Eosin). Die Harnsäure erscheint dann als schwarze Körnchen. Die Verff. heben den wesentlichen Unterschied zwischen ihrer Methode und der von Anten hervor. Dieser läßt die Reagentien auf den lebenden Hund einwirken, um sie in die Zirkulation einzuführen, wodurch die Harnsäureausscheidung erheblich verändert wird und wodurch fremde Substanzen in die Gewebe eingeführt werden. Bei der Methode der Verff. zeigen die schwarzen Körnchen die Lage und die genaue Menge der Harnsäure an, wie sie im Momente des Todes vorhanden waren.

Schiefferdecker (Bonn).

Regaud, Cl., et Dubreuil, G., Sur un nouveau procédé d'argentation des épithéliums au moyen du protargol (C. R. de l'Assoc. des Anat. V. Sess. Liége 1903. Bibliogr. Anat. Suppl. 1903, p. 121—123).

Das Silbernitrat und die sonst bisher zum Versilbern angewendeten Salze geben mit den Chloriden und anderen organischen Substanzen in den Geweben leicht Niederschläge. Man kann diese Schwierigkeit allerdings überwinden, wenn man ein künstliches iso-

tonisches Serum herstellt mit Hilfe von Substanzen, die mit Silbersalzen keine Niederschläge bilden, so mit Nitraten und alkalischen Sulfaten (Deekhuysen 1889). Verf. hat einen anderen Weg eingeschlagen und hat verschiedene neuere organische Silberverbindungen versucht: Das Protargol, Argentamin, Largin, Itrol, Nargol, Argyrol, Collargol und das Argonin. Von diesen erwies sich das Protargol als das günstigste. Das Protargol ist ein gelbes Pulver, leicht löslich in Wasser und gibt eine Lösung, die an Licht und Luft ziemlich rasch sich bräunt. Das Protargol ist eine Verbindung des Silbers mit einem Pflanzenalbumin und enthält 8·3 Prozent Silber. Es wird verwendet in einer einprozentigen Lösung in destilliertem Wasser. Diese Lösung gibt weder mit Chloriden noch mit Eiweißlösungen Niederschläge. Das Verfahren ist das folgende: 1) Man wäscht die Oberfläche der serösen Membran in physiologischer Kochsalzlösung möglichst kurz ab (um die eventuell darauf befindlichen Körper: Leukocyten, Blutkörperchen zu entfernen), nachdem man die Membran irgendwie ausgespannt hat, überträgt sie dann in die frisch bereitete Protargollösung (2 bis 3 Minuten), wäscht von neuem in dem Serum schnell ab, fixiert die Membran durch Eintauchen in Alkohol, einprozentige Osmiumsäure etc., färbt dann eventuell noch, dann Entwässerung, Aufhellung, Lack. 2) Statt der Protargollösung kann man auch eine Mischung einer einprozentigen Protargollösung mit einer einprozentigen Osmiumsäurelösung zu gleichen Teilen nehmen. Die Mischung ist nicht haltbar und muß daher jedesmal frisch zubereitet werden. Das weitere Verfahren, wie oben, man fixiert mit Alkohol. Dieses zweite Verfahren liefert eine vollständige Fixierung und eine sehr schöne feine Imprägnierung. Für Kurse reicht aber auch das erste Verfahren vollkommen aus und die Präparate werden im allgemeinen besser als die mit Silbernitrat angefertigten. Die Abwaschung mit der physiologischen Kochsalzlösung kann man auch wegfallen lassen, während man bei Anwendung des Silbernitrates zuerst mit destilliertem Wasser abwaschen muß, wenn man eine gute Imprägnation erhalten will (das ist meiner Erfahrung nach nicht nötig. Ref.). Nach der Imprägnation mit Protargol kann man z. B. mit Pikrokarmin, Alaunkarmin, Hämalaun etc. ebensogut färben wie sonst, was nach Silbernitrat nicht der Fall ist. Man setzt die Präparate einige Stunden lang auf einer weißen Unterlage dem Lichte aus, nicht der Sonne.

Schiefferdecker (Bonn).

Dubreuil, G., Le Picro-Bleu, note sur l'emploi de ce réactif pour la coloration spécifique des fibrilles conjonctives. Application à l'étude du tissu réticulé du ganglion lymphatique (C. R. Assoc. Anatom. VI. Sess. Toulouse 1904, Bibliogr. anat. Suppl. 1904, p. 62—66).

Man hat bis jetzt zur Darstellung der Bindegewebsfibrillen gewöhnlich die Methode von van Gieson (eventuell die Modifikation von Hansen) oder die von Calleja benutzt. Ein neues Färbemittel, das saure Methylblau (Bleu de méthyle acide ou bleu pour micrographie, no. 1), wurde von Zacchariadès empfohlen. Die Färbung damit war indessen noch nicht elektiv genug. Verf. hat daher eine Verbesserung versucht. Es zeigte sich zunächst, daß ein nahe verwandter Farbstoff, das „bleu pour micrographie no. 2" (Usine des produits chimiques et matières colorantes de Saint-Denis, Paris) günstiger für die Färbung sich erwies. Sodann ergab sich als bestes Zusatzmittel Pikrinsäure. Verf. nennt daher die neue Farbmischung „Picro-bleu no. 2". Dieselbe besteht aus:

Bleu pour micrographie no. 2, 0·5prozentige wässerige Lösung	4 cc
Pikrinsäure, gesättigte wässerige Lösung	46 „

Die Stücke können beliebig fixiert sein; die Schnitte werden, z. B. nach Paraffineinbettung, auf dem Objektträger festgeklebt, nach Entfernung des Paraffins (Xylol, Alkohol, Wasser) bedeckt man den Objektträger mit der Färbeflüssigkeit. Die Färbung dauert etwa 15 bis 20 Minuten. Man muß dabei, um eine gute Färbung zu erhalten, den Objektträger hin- und herneigen. In der Farbflüssigkeit schwimmende Celloïdinschnitte färben sich weit schneller. Nachdem man unter dem Mikroskope die Färbung als genügend festgestellt hat, wäscht man mit Wasser ab, dann absoluter Alkohol, Karbolxylol, Balsam. Pikrinsäurealkohol darf man nicht anwenden, da er sehr schnell das in den Geweben befindliche Blau auflöst. Bindegewebsfibrillen dunkelblau, auch die feinsten Fibrillen treten sehr scharf hervor, Protoplasma hellgrün, fast gelb, Kerne etwas dunkler grün. — Noch schöner als diese einfache Färbung sind indessen die folgenden Doppelfärbungen: 1) Acridinrot (rouge d'acridine) und Picro-bleu no. 2. Man färbt mit einer einprozentigen wässerigen Lösung von Acridinrot 5 Minuten, dann Abwaschen in Wasser, dann Färbung mit Picro-bleu wie oben. Man muß die Ent-

färbung in absolutem Alkohol genau überwachen, da das Rot hier leicht ausgezogen wird, und darf nicht Karbolxylol verwenden. 2) Safranin und Picro-bleu no. 2. Man färbt 24 Stunden mit der Safraninlösung von Zwaardemaker, dann Abwaschen in 60prozentigem Alkohol, dann in Wasser. Färbung mit Picro-bleu. Man muß ebenfalls die Entfärbung in absolutem Alkohol überwachen und darf kein Karbolxylol verwenden. Nach beiden Methoden erscheinen die Bindegewebsfibrillen tiefblau, das Protoplasma im allgemeinen hellviolett und die Kerne rot. Statt des Safranins kann man auch das Korallin in einer wässerig-alkoholischen Lösung verwenden.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Fischer, A., Eine neue Glykogenfärbung (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 13, 14, p. 399—400).

Bei einer Untersuchung über die Cyanophyceen hat Verf. eine haltbare Glykogenreaktion gefunden, die auch für die medizinische Histologie von Wert sein könnte. Die Methode geht davon aus, daß Glykogen aus wässeriger Lösung durch Gerbsäure gefällt wird und daß durch Alkohol gefälltes Glykogen ebenfalls Gerbsäure bindet. Methode: Fixierung in Alkohol; die Paraffinschnitte werden bis in Alkohol gebracht und gelangen, mit Vermeidung von Wasser, direkt mit dem anhaftenden Alkohol in eine 10prozentige wässerige Lösung von Tannin auf 10 bis 15 Minuten. Das Tannin darf nicht mit Wasser abgespült werden: Man verwende eine einprozentige Lösung von Kaliumbichromat, die mit Tannin so langsam eine Fällung gibt, daß man Zeit genug hat alles überflüssige Tannin von den Objektträgern zu entfernen. Dann kommen die Präparate für 10 bis 15 Minuten in 10prozentige Kaliumbichromatlösung, um darin sekundär fixiert zu werden. Die Glykogenmassen sind jetzt fast unlöslich, vertragen Abspülen mit Wasser und Färbung mit wässerigen Lösungen. Die schönsten Bilder ergibt 10 Minuten langes Färben mit der bekannten Safranin-Anilinwasserlösung; dann Abspülen mit Wasser und möglichst schnell durch Alkohol und Xylol in Balsam. Die Färbung ist durchaus elektiv: Glykogen allein leuchtend rot, behält die Form, die es in der Alkoholfixierung zeigte. Die Zellkerne sind durch die Tanninbehandlung völlig gegen Farbstoffe verstopft und erscheinen durch die Chromierung schwach gelblich, Protoplasma der Leberzellen mit leicht rötlichem Stich; alles was intensiv rot ist, ist Glykogen. Färbung ist haltbar. Statt des Safranins kann man auch alle andern basischen Farbstoffe verwenden: Sehr schöne, besonders

für Muskeln zu empfehlende Färbung ergibt Anilinwassergentiana, ferner wässeriges Methylenblau, sogenanntes Jodgrün. Bismarckbraun färbt nur gelbbraun. Alle diese basischen Farben färben, wie das Safranin, nur die Glykogenmassen. Saure Farben, wie Lichtgrün, Säurefuchsin, Eosin sprechen nicht an, auch Hämatoxylin (Delafield) färbt nicht. Eisenalaunhämatoxylin färbt zwar, bietet aber keine Vorteile. Mit Alkohol fixierte Kaninchen- und Pferdemuskeln ergaben recht gute Resultate, die wohl dazu ermuntern könnten, die Verteilung des Glykogens im Muskel damit zu demonstrieren. Bei Diabetesleber unterblieb die Färbung. Prof. Schmorl in Dresden hat dem Verf. mitgeteilt, daß die Färbung an pathologischen Präparaten versagt habe. *Schiefferdecker (Bonn).*

Driessen, L. F., Zur Glykogenfärbung (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 4, p. 129—131).

Seit etwa 10 Jahren bedient sich Verf. bei seinen Untersuchungen auf Glykogen in Geschwülsten, entzündeten Organen, Schleimhäuten, Plazenten etc. der folgenden Methode, welche den Vorteil besitzt, die kleinsten Glykogenkörner scharf hervorzuheben, ohne dabei das Bild der histologischen Struktur der Gewebe zu verschleiern. Verf. bespricht zunächst die Nachteile der bisher gebräuchlichen Methoden, weswegen auf das Original verwiesen wird. Methode: Der Celloïdin- oder Paraffinschnitt kommt aus dem Alkohol 1) in alkoholische Cochenillelösung oder in saure Mayersche Karminlösung. 2) Entfärben in 96prozentigem Alkohol. 3) Absoluter Alkohol 3 Minuten. 4) Jod-Karbol-Xylollösung 3 bis 5 Minuten. 5) Bei Überfärbung Ausspülen in Karbol-Xylol. 6) Kanadabalsam. Die eben erwähnte Jod-Karbol-Xylollösung wird in folgender Weise hergestellt: Bringt man gleiche Teile von Lugolscher Lösung und Xylol (resp. Karbolxylol) in ein Reagenzglas und mischt man beide Flüssigkeiten durch energisches Schütteln, so scheidet sich das leichtere und jetzt Jod enthaltende Xylol als obere Flüssigkeit von dem schwereren Wasser ab: Es treibt oben im Reagenzglase eine purpurrote Xyloljodlösung; mit einer Pipette werden einige wenige Tropfen dieser Lösung entnommen und damit der Schnitt aufgehellt und zugleich das Glykogen entfärbt. Ist die Färbung eine genügende, so entfernt man das überschüssige Jodxylol durch Fließpapier und bedeckt den Schnitt mit einem Deckgläschen, auf welches ein Tropfen Kanadabalsam kommt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Michaelis, L., Ultramikroskopische Untersuchungen (Virchows Arch. Bd. CLXXIX, 1905, H. 2, p. 195—208 m. 1 Tfl.

Verf. behandelt 1) das Verhalten von Farbstofflösungen. Besser als die Farbstoffe selbst teilt man die Farbstofflösungen ein, da ein und derselbe Farbstoff je nach dem Lösungsmittel oder den sonstigen näheren Nebenumständen zu jedem der drei Typen gehören kann. Verf. unterscheidet drei Klassen. Die in diesen Klassen enthaltenen Farbstoffe unterscheiden sich auch in bezug auf ihr Färbevermögen in histologischen Präparaten; 2) behandelt Verf. das Verhalten der Farbstoffe in gefärbten Zellpräparaten; 3) gibt er einige orientierende Bemerkungen über die Beeinflussung der Eigenfarbe durch das Ultramikroskop. Farbstoffe, welche in wässeriger Lösung fluoreszieren, scheinen immer in der Farbe der Fluoreszenz aufzutreten. Nicht fluoreszierende Farbstoffe, wie das Fuchsin, zeigen ein wechselndes Verhalten. Bei Anwendung der Abbeschen Zentralblende mit axialer Beleuchtung erscheint das Fuchsin gelbgrün bis grün, also in derselben Farbe, wie sie als Oberflächenfarbe bei den trockenen Kristallen des Farbstoffes auftritt. Dagegen erscheinen bei der senkrechten Beleuchtung und Anwendung der Siedentopfschen Küvette die Teilchen einer Fuchsinlösung rot. Manche, wie es scheint, die violetten Farbstoffe, zeigen in der Küvette nicht eine einheitliche Farbe, sondern Körnchen von verschiedener Färbung; 4) bespricht Verf. das Verhalten von Eiweißlösungen im Ultramikroskope. In jeder Eiweißlösung ist das Eiweiß in zwei verschiedenen Zustandsphasen enthalten: in auflösbarer Form und als unauflösbare Trübung. Ob es zu einem dritten Teile nicht in noch feinerer Form enthalten ist, derart, daß etwa zwischen den hypothetischen feinsten Körnchen, aus welchen sich die unauflösbare Trübung zusammensetzen muß, noch feinere Teilchen enthalten sind, welche gar keine optische Erscheinung machen, wie etwa die Moleküle irgendeines Salzes in wässeriger Lösung, von denen das Ultramikroskop gar nichts zeigt, ist zurzeit noch nicht zu entscheiden. Aus den vom Verf. entwickelten Anschauungen über die Natur einer Eiweißlösung folgt ohne weiteres, daß die von Römer, Much und Siebert beschriebene Methode der quantitativen Eiweißbestimmung auf ultramikroskopischem Wege in ihrer Allgemeinheit nicht zu halten ist. Wegen des näheren muß auf das Original verwiesen werden.

Schiefferdecker (Bonn).

4. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Schröder, O., Beiträge zur Kenntnis der Bauchsinnesorgane [Bauchaugen] von Eunice virides Gray sp. [PALOLO] (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX, 1905, p. 132—149 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.).

Das Material war in Osmiumsäure, Sublimatlösung, Chromsäure oder Formol fixiert und in starkem Alkohol konserviert worden. Gefärbt wurde unter anderm mit gutem Erfolg auf folgende Arten: Nach Vorfärbung mit Boraxkarmin und Differenzierung mit schwach angesäuertem Alkohol wurden die Wurmstücke ungefähr für 12 Stunden in eine $^1/_8$prozentige Lösung von Hämatoxylin übertragen und dann eine gleiche Zeit mit einer einprozentigen Lösung von chromsaurem Kali behandelt. Eine andere Färbemethode bestand darin, daß die ebenfalls mit Boraxkarmin vorgefärbten Objekte 24 Stunden in einprozentige Osmiumsäure gebracht und dann die gleiche Zeit mit Holzessig behandelt wurden. Nach längerem Wässern wurde in gewöhnlicher Weise in Paraffin eingebettet. Von Schnittfärbungen gab Eisenhämatoxylin recht gute Resultate, ferner kam noch die VAN GIESONsche Methode und eine Doppelfärbung mit Boraxkarmin und einer 0·01prozentigen Lösung von triphenylrosanilintrisulfosaurem Natrium in gesättigter, wässeriger Pikrinsäurelösung zur Verwendung.

E. Schoebel (Neapel).

Heinemann, Ph., Untersuchungen über die Entwicklung des Mesoderms und den Bau des Ruderschwanzes bei den Ascidienlarven (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX, 1905, p. 1—72 m. 4 Tfln.).

Zur Untersuchung dienten Embryonen und Larven von Ciona intestinalis, Clavelina lepadiformis und Molgula nana. Die Fixierung der ersteren geschah in Alkohol-Essigsäure, Platinchlorid-Osmium-Pikrinsäure, Formol, Sublimat, Pikrin-Essigsäure, Platinchlorid-Chrom-Osmiumsäure, der zweiten in Alkohol oder Pikrinschwefelsäure, der dritten schließlich zusammen mit dem Muttertier in 96prozentigem

Alkohol. Alkohol-Essigsäure gibt für Schnittpräparate recht gutes Material. Für Totalpräparate freischwimmender Larven ist unter anderm auch Platinchlorid-Osmium-Pikrinsäure empfehlenswert, indem durch die Osmiumsäure die Konturen der Muskelzellen und die Fibrillen derselben, ohne jede weitere Färbung deutlich werden. Einfache Alkoholfixierung gibt äußerst befriedigende Resultate, indes dürfte sie nur dann zu empfehlen sein, wenn das Material bald zur Verarbeitung kommt. Eingebettet wurde in gewöhnlicher Weise in Paraffin, und zwar blieben die Objekte etwa 6 Stunden im geschmolzenen Paraffin. Beim Einschluß der Schnitte in Balsam muß äußerst vorsichtig zu Werke gegangen werden, da leicht Trennung und Verlagerung einzelner histologischer Elemente eintritt. Überführen der Schnitte vom absoluten Alkohol in Xylol erwies sich oft als schädlich. Es ist deshalb besser beim Einschluß zwischen Alkohol und Balsam Nelkenöl als Zwischenmedium zu benutzen. Die besten Färbungen gab DELAFIELDsches Hämatoxylin, kombiniert mit Alaunkarmin, oder Methylenblau, kombiniert mit Hämatoxylin nach HEIDENHAIN. Bei ersterer Tinktion wurden die Objekte in toto in Alaunkarmin gefärbt (Boraxkarmin gibt ähnliche Resultate), dann die Schnitte mit alter schwacher DELAFIELDscher Hämatoxylinlösung stark überfärbt, eine Stunde lang in Leitungswasser gestellt, mit 70prozentigem salzsaurem Alkohol differenziert, ferner in 70prozentigem ammoniakhaltigem Alkohol neutralisiert und dann durch steigenden Alkohol und Nelkenöl in Kanadabalsam übergeführt. Um bei Totalpräparaten der freischwimmenden Larven das Detail der Muskelzellen des Schwanzanhanges zur Darstellung zu bringen, wurden die Objekte mit Methylenblau gefärbt und in Glyzerin eingeschlossen. Das Glyzerin zieht das Methylenblau immer mehr und mehr aus und auf einem gewissen Zeitpunkte lassen sich Zellkonturen, Fibrillen etc. deutlich erkennen. *E. Schoebel (Neapel).*

Laß, M., Beiträge zur Kenntnis des histologisch-anatomischen Baues des weiblichen Hundeflohes [Pulex canis DUGÈS s. Pulex serraticeps TASCHENBERG] (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX, 1905, p. 73—131 m. 2 Tfln.).

Die Fixierung bietet gewisse Schwierigkeiten, besonders die der erwachsenen Tiere. Larven und Puppen fixiert man am besten durch Übergießen mit einem auf 55 bis 60° C. erwärmten Gemisch aus konzentrierter Sublimatlösung und absolutem Alkohol. Nach 5 bis

10 Minuten sticht man die Objekte mit einer feinen Nadel an, bringt sie in 43prozentigen Alkohol und behandelt sie dann in üblicher Weise weiter. Auch durch Abtöten mit 50 bis 60° warmem Wasser erhält man recht gute Präparate. Schwimmen die Objekte beim Fixieren auf der Flüssigkeit, so hilft meist alles Schütteln nichts, und die Fixierung ist dann immer schlecht. Die erwachsenen Tiere fixiert man am besten in einem ebenfalls auf 55 bis 60° C. erwärmten Gemisch aus gleichen Teilen Sublimatlösung und absolutem Alkohol mit einem Zusatz von 2 Prozent konzentrierter Essigsäure. Kopf und Thorax wurden immer entfernt. Zur Herausnahme einzelner Organe aus dem Körper der Imago wendet man vorteilhaft eine starke Alkohol-Essigsäuremischung (Essigsäure 60prozentig, 20 Teile, Alkohol 95prozentig, 20 Teile, Wasser 100 Teile) an. Durch diese Flüssigkeiten werden die bindegewebigen Teile sehr stark angegriffen, so daß sich das Chitin entfernen läßt. Zur Färbung der Schnitte diente Alaunkarmin, Boraxkarmin oder GRENACHERsches Hämatoxylin.

E. Schoebel (*Neapel*).

Bösenberg, H., Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese bei den Arachnoiden (Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontogen. Bd. XXI, 1905, p. 515—570 m. 3 Tfln.).

Zur Materialgewinnung wurden die geschlechtsreifen Tiere unter physiologischer Kochsalzlösung vom Bauch aus geöffnet und ihre Hoden mit den Vasa deferentia, nach Zurückschlagen der Leberlappen, mittels feinen Nadeln herausgehoben. Zur ersten notwendigen Orientierung wurden in üblicher Weise Ausstrichpräparate angefertigt. Der Hauptsache nach wurden weiter aber Schnitte untersucht. Das Material für diese Präparate wurde im wesentlichen in einem Sublimat-Alkohol-Eisessig-Gemisch fixiert, außerdem zum Teil noch in HERMANNscher oder ZENKERscher Flüssigkeit. Wird beim Herauspräparieren der Organe jede, auch die geringste Austrocknung vermieden, so tritt keine Schrumpfung in den Fixierungsflüssigkeiten, in den man sie am besten eine bis 2 Stunden beläßt, ein. Die weitaus beste Fixierung lieferte die HERMANNsche Flüssigkeit. Zur Färbung zeigte sich vor allem die HEIDENHAINsche Eisenhämatoxylinmethode als Einfachfärbung oder kombiniert mit Bordeaux-Rot als Doppelfärbung gut geeignet. Ebenfalls gute Bilder wurden noch mit Hämatoxylin und Hämalaun-Orange erzielt. *E. Schoebel* (*Neapel*).

B. Wirbeltiere.

Glas, E., Zur Frage der Sarkolyse. [Erste Mitteilung über quergestreifte Muskeln und deren Zerfallsprodukte im follikulären Gewebe der Tonsille] (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 6, p. 155—171 m. 1 Tfl.).

Verf. fand in der Tonsille eigenartige Körperchen, welche sich bei näherer Untersuchung als Sarkolyten erwiesen. Die Färbung nach van Gieson ergab Gelbfärbung dieser Körperchen, eine Blaufärbung trat bei der von Paulsen für Eiweißkristalle in Pflanzenzellen angegebenen Färbung auf, welche zu einer tiefblauen Färbung der Kristalle führt: 1) Beizung in 25prozentiger, wässeriger Tanninlösung (eine Stunde). 2) Auswaschen. 3) Behandlung mit 20prozentiger Eisenvitriollösung (eine Stunde). 4) Wasser, Alkohol, Nelkenöl, Balsam. *Schiefferdecker (Bonn).*

Erdély, A., Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehung der Lymphe. Fünfte Mitteilung. Über die Beziehung zwischen Bau und Funktion des lymphatischen Apparates des Darmes (Zeitschr. f. Biol. Bd. LXVI, 1904, H. 2, p. 119—152 m. 1 Tfl.).

Verf. hat am Darme der weißen Ratte das Auftreten von verschieden beschaffenen Lymphzellen untersucht, die je nach der Art der Nahrung sich zeigten. Verf. hat im ganzen acht Versuchsreihen durchgeführt, von denen jede in der Regel bestand aus je einer Hungerratte, einer Fleischratte, einer Speckratte und einer Kartoffelratte. Den Tieren wurde reichlich Wasser geboten. Die Hungerperioden dauerten 3 bis 6 Tage, die Fütterungsperioden 3 bis 8 Tage. Die Tiere wurden durch Chloroform getötet. Sofort nach dem Tode Fixierung der Därme: Konzentrierte Sublimatlösung, Flemmingsches Osmiumgemisch, Flüssigkeit von Mingazzini (konzentrierte Sublimatlösung 50 cc. Alkohol 25 cc, konzentrierte Essigsäure 25 cc). Vor der Einbringung in die Fixierungsflüssigkeit wurde zuerst das Darmlumen mit derselben erfüllt. Die besten Resultate hinsichtlich der Erhaltung der Formen und der Färbefähigkeit ergab die einfache Sublimatfixierung, insofern nur das lymphatische Gewebe der Zotte

und der Mucosa in Frage kam. Für andere Teile, namentlich für bestimmte Abschnitte des Darmepithels, erhält man sehr schöne Bilder mit der Flüssigkeit von Mingazzini. Verf. hat diese letztere bei seinen Untersuchungen, welche nur dem lymphatischen Gewebe galten, nur da mit Vorteil benutzt, wo es sich darum handelte, die genauere Lage der Leukocyten und deren Beziehung zum Epithel festzustellen, sowie für einige Strukturverhältnisse des Kernes. Paraffineinbettung. Die folgenden Färbungen wurden verwendet: Ehrlichs Triacid für neutrophile Granulationen, Eisenhämatoxylin (M. Heidenhain) mit Fuchsinfärbung, Hämatoxylin-Eosin, Methylenblau-Eosin (Willebrandt), gelegentlich auch die Ehrlichschen Dreifarbgemische für eosinophile und basophile Zellen und das Ehrlich-Biondische Dreifarbengemisch. Die besten Bilder ergab das Ehrlichsche Triacid. Verf. bemerkt hierzu, daß manche Autoren mit dieser für Blutpräparate allgemein günstig beurteilten Farbmischung bei Gewebsschnitten weniger zufrieden sind. Verf. hat alles das, was man der Biondi-Heidenhainschen Dreifarbenlösung nachrühmt, mit Triacid erzielt und meint, daß dieses noch schönere Bilder gibt, als gut gelungene Biondipräparate. Verf. teilt mit, daß auf Veranlassung von Professor Asher Herr Dr. Hollborn (Inhaber des mikroskopisch-chemischen Laboratoriums von Dr. G. Grübler) mehrere Modifikationen des Biondi - Ehrlich - Heidenhainschen Dreifarbengemisches angefertigt hat. Die neuerdings gelieferte Trockensubstanz, zu welcher man selbst nach Vorschrift Fuchsin hinzufügen muß, liefert die besten Bilder. Diese stehen aber den von Triacid gelieferten nach, nur das bindegewebige Stroma und besonders die Endothelien der Kapillaren werden besser. Die Technik der Triacidfärbung ist einfach: Nach Entfernung des Paraffins kommen die Präparate in die käufliche konzentrierte Lösung und verbleiben in dieser, je nach der Schnittdicke und der sonstigen Beschaffenheit des Präparates, 2 bis 15 Minuten, dann werden sie mit Wasser und Alkohol nacheinander differenziert: die Erfahrung lehrt, wie lange in jeder Flüssigkeit. Die Eisenhämatoxylinmethode von Heidenhain diente zur Ergänzung der Triacidbilder, besonders hinsichtlich der Kernverhältnisse; irgendwelche wesentliche, neue Aufschlüsse gegenüber der Triacidmethode bietet sich aber bei den Leukocyten des Rattendarmes zumal dann nicht, wenn es auf die Beziehungen derselben zu verschiedenen funktionellen Zuständen ankommt.

Schiefferdecker (Bonn).

Zietzschmann, O., Über die acidophilen Leukocyten (Körnerzellen) des Pferdes (Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXII, 1905, H. 1—3, p. 1—90 m. 1 Tfl.).

Um Körnchenbildungen in Zellen zur Klasse der α-Granulationen rechnen zu können, genügt es nach Ehrlich, wenn sich dieselben nach folgenden Methoden färben: 1) Mit stark rotem Eosin-Glyzerin. 2) Mit einem in Indulin gesättigten Glyzerin, und 3) mit einer konzentrierten wässerigen Lösung von Orange. Diese drei Methoden hat Verf. angewendet, dazu aber noch viele andere Färbemittel auf ihr Verhalten zu den acidophilen Granula untersucht, einesteils, um schon Gefundenes nachzuprüfen (ob Funde bei Zellen von Menschen oder Tieren speziell auf die Einhufer übertragen werden können), andernteils, um neue Farben oder Farbmischungen in ihrer chemisch tinktoriellen Affinität zu den α-Granulationen der Pferdeleukocyten kennen zu lernen. Verf. gibt nun eine sehr eingehende Beschreibung seiner Färbungen, derentwegen bei ihrer großen Reichhaltigkeit auf das Original verwiesen werden muß. Er kommt dann zu dem Schlusse, daß aus seinen Färbeversuchen hervorgehe, daß die acidophilen Granula der Leukocyten des Pferdes, wie schon längst bekannt, mit den gewöhnlichen Kernfarben sich nicht färben lassen. Auch die Schleimfarben und die Reagentien für das elastische Gewebe und andere spezifische Tinktionsmittel zeigen keine Affinität zu diesen Körnchen. Dagegen färben sich die Granula mit Hämatoxylin-Eisenalaun nach Heidenhain, mit Methylgrün, mit Osmiumsäure und Indigkarmin. Eine besondere Affinität besitzen die Körnchen zu allen sauren Farben (Eosin, Erythrosin, Säurefuchsin, Orange G, Indulin, Aurantia, Pikrinsäure). Es sind diese Zellelemente also acidophil im Sinne Ehrlichs. Nach neueren Untersuchungen aber klassifiziert man die acidophilen Granulationen in den Leukocyten der Säugetiere in mehrere Unterabteilungen, je nachdem sie aus einem Gemische verschiedener saurer Farben die eine oder die andere aufnehmen. Die Farbmischung, die zur Unterscheidung dieser Unterabteilungen angewendet wird, besteht aus gleichen Teilen einer wässerig-glyzerinigen Lösung von Indulin, Eosin und Aurantia und man unterscheidet nach dem Elektivvermögen zwischen indulino-, eosino- und aurantiophilen Körnchen in den Leukocyten. Verf. geht dann weiter auf seine Färbungsresultate ein, derentwegen wieder auf das Original verwiesen wird, und dann auf die Chemie der Körnchen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Meves, F., Über die Wirkung gefärbter Jodsäure auf die roten Blutkörperchen der Amphibien. Vorläufige Mitteilung (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 4 u. 5, S. 97—103 m. 4 Abb.).

Lawdowsky[1] hat 1893 mitgeteilt, daß Jodsäure in Verbindung mit einigen Farbstoffen, besonders Neuviktoriagrün oder Methylviolett 6 B, in eigenartiger Weise auf die Blutkörperchen einwirkt. Verf. hat nun diese Methode nachgeprüft; weiter gibt er folgendes an. Jodsäure, ungefärbt, in 2- bis 3prozentiger Lösung, am besten mit einem Kochsalzzusatze von etwa ein Prozent, wirkt in ähnlicher Weise wie eine Salpetersäure-Kochsalzlösung (30 Tropfen Salpetersäure von 1·4 spezifischem Gewichte auf 100 cc einer 0·9 bis einprozentigen Chlornatriumlösung), d. h. sie ist, wie diese, ein geeignetes Mittel, um die Quermembranen des Randreifens (unter Quellung desselben) darzustellen. Die Darstellung der Quermembranen durch Salpetersäure-Kochsalz scheint noch leichter bei Anwesenheit von etwas Sublimat zu gelingen. Verf. hat in letzter Zeit mit besonders gutem Erfolge folgende Mischung angewendet: Salpetersäure von 1·4 spezifischem Gewichte 24 bis 30 Tropfen, Chlornatrium 1·8- bis 2prozentige Lösung 50 cc, Sublimat einprozentige Lösung 50 cc. Ferner werden bei der oben angegebenen Jodsäuremischung in zahlreichen Blutzellen (Salamandra) die unregelmäßig gewundenen (zuweilen ringförmigen) intracellulären Fäden sichtbar, die Verf. ebenfalls schon mit Salpetersäure-Kochsalz erhalten hatte. — Durch 4prozentige Jodsäure, der man Neuviktoriagrün oder Methylviolett zusetzt (wenn man Dahlia zusetzt, darf man der Jodsäure kein Kochsalz zufügen, da dieses mit Dahlia einen Niederschlag gibt), kann man die erwähnten Quermembranen und intracellulären Fäden gefärbt erhalten, am konstantesten aber wird das Körnerband gefärbt, welches Verf. bei Salamander schon früher nach Behandlung der roten Blutkörperchen mit einer stärker verdünnten Salpetersäure (3 bis 4 Tropfen Salpetersäure auf 100 cc einer 0·9- bis einprozentigen Chlornatriumlösung) als ein körniges Aussehen des Randreifens wahrgenommen hatte. — Wenn man zu 20 cc einer 4prozentigen Jodsäurelösung, welche 1,5 Prozent Chlornatrium enthält, 5 cc einer 2prozentigen Osmiumsäurelösung hinzufügt, einen Tropfen dieser Mischung auf dem Objektträger mit einem etwas kleineren Tropfen einer 0·5prozentigen Lösung von Malachitgrün vermischt und einen kleinen Tropfen Salamander-

[1] Vgl. diese Zeitschr. Bd. X, 1893, p. 4—35 m. 2 Tfln.

blut hineinrührt, das Präparat dann eindeckt und mit einem Paraffinreifen umzieht, so sieht man meistens nach einigen Augenblicken an fast sämtlichen Blutkörperchen ein scharf gefärbtes Fadennetz auftreten, welches unmittelbar an der Oberfläche liegt. An Blutkörperchen des Frosches gelingt dies nicht. Das hier genannte Malachitgrün ist, wie Verf. bemerkt, der chemischen Formel nach identisch mit Neuviktoriagrün, es wurde als Malachitgrün von Grübler in Leipzig bezogen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Lenzmann, R., Über eine vereinfachte Methode der Färbung von Bluttrockenpräparaten (Rheinisch-Westfälische Ges. f. innere Med. u. Nervenheilkunde. IV. Vers. 6. Nov. 1904 zu Duisburg; Ref. in Münchener med. Wochenschr. Jahrg. LI, 1904, No. 50, p. 2250—2251).

Nur sehr dünne (0·08 bis 0·1 mm), tadellos mit Alkohol und Äther gereinigte Deckgläschen dürfen verwendet werden und sind nicht mit den Fingern, sondern nur mit Pincetten zu führen. Die Fingerkuppe des Patienten, aus der das Blut entnommen wird, muß auf das sorgfältigste gereinigt werden. Die lufttrockenen Präparate müssen zunächst fixiert werden. Die Fixierung durch Hitze nach Ehrlich ist für den Praktiker nicht durchführbar, die Fixierung in Formolalkohol oder in Alkohol und Äther zu gleichen Teilen braucht wenigstens 5 bis 10 Minuten und ist unsicher. Verfasser hat daher versucht, die Fixierung mit der Färbung zu verbinden. Was die Färbung anlangt, so ist es für den Praktiker am bequemsten, wenn er solche Lösungen benutzt, die alle körperlichen Elemente des Blutes zugleich zur Anschauung bringen: die eosinophilen, die neutrophilen und die basophilen. Dieses leisten das Ehrlichsche Dreifarbengemisch und die Ziemannsche Lösung (ein Gemisch von 4 Teilen Eosinlösung [0·1 : 100] und ein Teil Methylenblaulösung [1 : 100] und 2·5 Borax). Diese sogenannten panchromatischen Farblösungen färben aber nicht so gleichmäßig, wie es wünschenswert ist. Verf. hat deshalb zunächst mit einem Eosin-Methylenblaugemisch gefärbt, das die eosinophilen und neutrophilen Elemente vorzüglich darstellt und hat dann zur Färbung der basophilen Elemente mit einer gesättigten Methylenblaulösung nachgefärbt. Die Lösung des Verf. besteht aus: Eosin 1·2; absoluter Alkohol 100·0; Formol 5·0; Sublimat 0·3; dann filtrieren. Zu 10 cc dieser Lösung wird zugesetzt 1 cc der folgenden Methylenblaulösung: Methylenblau 0·8; absoluter Alkohol 100·0; 3prozentige Essigsäurelösung

20 Tropfen, filtrieren. Die schon filtrierten einzelnen Lösungen müssen nach der Mischung nochmals filtriert werden. Von diesem fertigen, lange Zeit haltbaren Farbengemische werden etwa 10 Tropfen auf das in einem Uhrschälchen mit der beschickten Seite nach oben liegende lufttrockene Deckgläschen, am besten wieder durch ein Filter, geträufelt. Nach einer Minute ist das Präparat vorzüglich fixiert, die neutrophilen Elemente sind deutlich gefärbt, die eosinophilen Elemente könnten aber intensiver gefärbt sein. Da sie sich in wässerigen Lösungen am besten färben, so setzt Verf., nachdem das Präparat eine Minute mit dem Farbgemisch bedeckt war, aus einer Spritzflasche destilliertes Wasser hinzu, so daß das in Form einer Kuppe das Deckglas bedeckende Farbgemisch zerfließt und hellrot wird. Man braucht dazu etwa die fünffache Menge von Wasser. Das Deckglas liegt nun auf dem Boden des Uhrschälchens in dem mit destilliertem Wasser verdünntem Farbengemische, man muß es durchschimmern sehen. Es verbleibt in dieser verdünnten Mischung etwa 1·5 Minute. Betrachtet man es jetzt nach Abspülen im Leitungswasser mit Ölimmersion, so findet man die eosinophilen und neutrophilen Elemente sehr scharf gefärbt, die basophilen müssen noch nachgefärbt werden. Dies macht man in folgender Mischung: Methylenblau 2·4; absoluter Alkohol 100·0; Borax 2·5; filtrieren. Von dieser Lösung träufele man durch ein Filter einige Tropfen auf das vorgefärbte und in Wasser abgespülte Deckglas, belasse diese 20 bis 30 Sekunden darauf, spüle gründlich ab, bis die zunächst etwas blaue beschickte Fläche eine violette Farbe angenommen hat: alle eosinophilen Elemente sind jetzt rot, die neutrophilen deutlich violett, die basophilen tiefblau, die Blutplättchen dunkelviolett. Die Form der Blutkörperchen ist tadellos erhalten. Die Methode würde also kurz die folgende sein: Die Farblösungen No. 1 und 2 sind fertig, man träufelt No. 1 auf das lufttrockene, mit der beschickten Seite nach oben gekehrte Deckglas, setzt aus der Spritzfläche nach einer Minute etwa die fünffache Menge destillierten Wassers zu; nimmt nach 1·5 Minute das Deckglas aus dieser Farblösung, spült in Leitungswasser ab, färbt mit Lösung No. 2, die auf das mit der Pincette gehaltene Deckglas aufgeträufelt wird, 20 bis 30 Sekunden nach, spült wieder ab, trocknet auf Fließpapier, dann Kanadabalsam. Die ganze Behandlung dauert 3 Minuten. — Trotzdem die Methode einfach ist, bedarf es einer gewissen Übung, um tadellose Präparate zu erhalten. Am schwersten ist es, Farbstoffniederschläge zu vermeiden. Verf. rät, den Farbstoff immer durch ein feuchtes Filter

auf das Deckglas zu träufeln. Die Filter müssen von tadelloser Beschaffenheit sein. Die besten sind die von der Firma Schleicher und Schüll in Düren (zu beziehen durch Marquart, Bonn). Dem Verf. wurden von sachverständiger Seite die sogenannten gehärteten Filter empfohlen. Für die Filtrierung der Lösung No. 1 sind diese vorzüglich; für die Lösung No. 2 muß das Filter noch dichter sein. Auf Empfehlung der Firma hat Verf. für diese letztere Lösung ein besonders dichtes Filter (Firmanummer 589) benutzt. Erst seitdem Verf. in dieser Weise verfuhr, hat er tadellose Präparate erhalten. — Aus der Diskussion ist das Folgende hervorzuheben: Hoffmann (Düsseldorf) macht auf die Jennersche Färbung aufmerksam. Die Firma Burroughs and Wellcome bringt kleine Tabletten in den Handel, die in 10 cc Methylalkohol gelöst, in ähnlicher Weise gleichzeitig fixieren und färben. Dieselben geben gute Übersichtsbilder. Für feinere Untersuchungen wird man die Triacidfärbung und Eosin-Methylenblaufärbung nach Wärmefixierung vorziehen. Auch die May-Grünwaldsche Färbung gibt gute Resultate. Minkowski benutzt gleichfalls für praktische Zwecke die eben erwähnten Soloids von Bourroughs and Wellcome nach Jenner, und ist mit den Resultaten sehr zufrieden. Die Methode ist im wesentlichen identisch mit der von May-Grünwald. Für die Ausbreitung der Blutschicht ist das Plehnsche Verfahren des Ausziehens eines Bluttropfens mittels eines schräg gehaltenen Deckglases sehr empfehlenswert.

Schiefferdecker (Bonn).

Hansen, F. C. C., Untersuchungen über die Gruppe der Bindesubstanzen. I. Der Hyalinknorpel (Anat. Hefte, H. 83 [Bd. XXVII, H. 3] 1905, p. 537—820 m. 5 Figg. im Text u. 10 Tfln.).

Verf. bespricht in dieser sehr umfangreichen Arbeit zunächst sehr eingehend die bisher von anderen Autoren angewendeten Knorpelfärbungen. Er hat eine sehr große Anzahl von Färbungen durchprobiert, führt dieselben aber nicht besonders auf. Er gibt zunächst einige allgemeine Sätze in bezug auf die Acidophilie und Basophilie der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels. 1) Die Knorpelgrundsubstanz enthält überall eine Mischung basophiler und acidophiler Stoffe. 2) Diese können sich gegenseitig maskieren. 3) In der Regel ist im frischen oder gut fixierten Knorpel (am besten mit Alkohol, Formol-Alkohol, Sublimat, Sublimat-Essigsäure, Zenkerscher Flüssigkeit) die Basophilie dominierend und erstreckt sich über das ganze

Gebiet, das morphologisch betrachtet, die Knorpelgrundsubstanz ist. Die Basophilie als Totalität ist am stärksten mitten im Innern des Knorpels und nimmt nach dem Perichondrium oder der Gelenkoberfläche hin mehr oder weniger ab. 4) Die Acidophilie ist gewöhnlich am meisten ausgesprochen nach außen unter dem Perichondrium und den freien Oberflächen, wie auch um die Gefäße des Knorpels. Von hier nimmt die Acidophilie ab, während die Basophilie zunimmt. In der Tiefe des Knorpels sind die acidophilen Stoffe oft total von den basophilen maskiert, so daß oft gar keine Acidophilie mehr angetroffen wird. 5) Gewisse Strecken der Grundsubstanz sind mithin basophil und acidophil zugleich, d. h. die Stoffe haben einander nicht völlig maskiert. 6) Durch gewisse Behandlungen der Knorpelgrundsubstanz kann man bewirken, daß diese ihre Basophilie verliert, und (anscheinend ziemlich unverändert) überall stark acidophil wird, selbst da, wo vorher keine Spur der Acidophilie vorhanden war (Demaskierung des acidophilen Stoffes). 7) Die verschiedenen sauren und basischen Farbstoffe zeigen in ihrem Verhalten gegen die Knorpelgrundsubstanz bedeutende Verschiedenheiten. Nicht alle Kombinationen sind gleich gut geeignet. Die Verschiedenheiten der Farbstoffe lassen sich mit Erfolg zu einer feineren Analyse benutzen. 8) Die Knorpelgrundsubstanz färbt sich in der nicht zu starken wässerigen Lösung gewisser basischer Farbstoffe metachromatisch; die wichtigsten sind: Methylviolett, Thionin, Toluidinblau, polychromes Methylenblau (oder eine Lösung von Methylenblau, die „Methylenrot“ enthält), in diesen färbt sie sich nämlich mehr oder weniger rot, bezw. purpurn, oft der Metachromasie der Mucine analog. Durch gewisse Maßregeln läßt die Metachromasie sich aufheben. Wegen alles weiteren muß auf die sehr eingehenden Auseinandersetzungen des Originals verwiesen werden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schwarz, G., Studien über im großen Netz des Kaninchens vorkommende Zellformen (Virchows Arch. Bd. CLXXIX, 1905, H. 2, p. 209—265 m. 1 Tfl.).

Die Tiere wurden durch Chloroform getötet, die Bauchhöhle unter Vermeidung von Blutung in dieselbe geöffnet, sodann verschiedene Teile des Netzes nach Maximow über abgeschnittene, mittelweite Flaschenhälse gespannt und so in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Fixierung des Netzes in situ liefert infolge von Schrumpfung minderwertige Präparate. Bei Netzen, die zu klein waren, um über Flaschenhälse gezogen zu werden, suchte sich Verf. durch vorsich-

tiges Unterlegen von kleinen Glasplättchen zu helfen und spannte so die Präparate auf. Zur Fixierung erwies sich am besten warme Zenkersche Flüssigkeit. Nach Auswaschen in Wasser, Behandlung mit Jodalkohol von steigender Konzentration, wurden die Präparate von dem Flaschenhalse gelöst und in beliebig große Stücke zerschnitten. Färbung nach verschiedenen Methoden, hauptsächlich mit Unnas polychromem Methylenblau und nachfolgender Differenzierung in Glyzerinäther, mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, mit Pappenheims Methylgrün-Pyronin, modifiziert nach Unna, Ehrlichs Triacid und Hämatoxylin-Eosin. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Karakacheff, K. Iv., Über das Verhalten der Langerhansschen Inseln des Pankreas bei Diabetes mellitus (Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXII, 1904, H. 1, 2, p. 60—89 m. 1 Tfl. u. 3 Figg. im Text).

Stücke von Kopf, Körper und Schwanz des Pankreas wurden in Müller-Formol (10 Prozent) gelegt, nur bei einigen Fällen in Flemmingsche Flüssigkeit, dann steigender Alkohol, Celloïdin. Färbung der Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin, nach van Gieson, mit polychromem Methylenblau und Safranin. Besonders geeignet schien die Färbung mit polychromem Methylenblau zu sein, mit welchem die Zymogenkörnchen sich dunkel färben, so daß die Zellen der Drüsenacini ganz dunkel erscheinen, während die der Langerhansschen Inseln hellblau bleiben. Aber auch die Hämatoxylin-Eosinfärbung leistete gute Dienste. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Leyen, E. von der, Über die Schleimzone des menschlichen Magen- und Darmepithels vor und nach der Geburt (Virchows Arch. Bd. CLXXX, 1905, No. 1, p. 99—107).

Es wurde der Magen eines Fötus von 27 cm Länge untersucht, ferner der von Neugeborenen und etwas älteren Kindern bis zu einem Jahre hin. Der Magen des Fötus kam etwa 16 Stunden nach dem Abort in die Konservierungsflüssigkeit. Den Kindern wurde, soweit es möglich war, möglichst bald nach dem Tode eine 10prozentige Formollösung in die Bauchhöhle eingespritzt und es wurde mittels eines Nelaton-Katheters Formol in den Magen durch den Mund eingeführt. Bei andern Fällen, die bald nach dem Tode seziert wurden, wurde ein Teil des Magens in 10prozentige Formollösung, ein anderer in ein Gemisch von Sublimat-Chromsäure und

Eisessig gelegt. Nachgehärtet wurde in Alkohol, eingebettet in Paraffin. Schnitte meist 10 μ. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin und nach van Gieson. Außerdem wurden sämtliche der Verfasserin bekannte Schleimfärbemethoden durchprobiert. Gute Resultate nur mit Thionin und Toluidinblau, die Dissesche Färbung gelang nicht (Ursache wahrscheinlich die etwas verschiedene Konservierungsmethode). Toluidinblau färbte sowohl nach Sublimat wie nach Formol, nach letzterem intensiver. Mit Thionin gefärbte Präparate zeigten in Wasser betrachtet eine blaurote Färbung des oberen Endes der Epithelzellen; durch Alkohol wurde die Farbe sofort ausgezogen. Färbt man die Schnitte mindestens 24 Stunden in einer verdünnten wässerigen Lösung von Toluidinblau, entfärbt in verdünntem Alkohol, hellt mit Bergamottöl (nicht mit Xylol) auf und bettet in Kanadabalsam ein, so färbt die Schleimschicht der Epithelzellen sich dunkelrot-violett bis beinahe schwarz, die Zellkerne und das übrige Gewebe werden blau, die Mastzellen rotviolett. Die Becherzellen des Darms färbten sich prachtvoll schwarzviolett. *Schiefferdecker (Bonn).*

Illing, G., Vergleichende histologische Untersuchungen über die Leber der Haussäugetiere (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 7, 8, p. 177—193 m. 1 Fig.).

Die Untersuchungen erstreckten sich auf eine größere Anzahl verschiedener Haussäugetiere. Den soeben getöteten Tieren wurde die Leber lebenswarm entnommen und es wurden würfelförmige Stücke von nicht mehr als 0·5 cm Seite sofort in die Fixierungsflüssigkeit gebracht: Heiß gesättigte Sublimat-Kochsalzlösung, Zenkersche und Müllersche Flüssigkeit. Die erste war die geeignetste, die zweite ging auch noch an, die dritte ergab keine guten Resultate. Nachhärtung in Alkohol. Paraffineinbettung. Schnitte von 5 μ Dicke. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin oder Hämatoxylin-Kongorot.

Schiefferdecker (Bonn).

Wuttig, H., Experimentelle Untersuchungen über Fettaufnahme und Fettablagerung (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVII, 1905, H. 2, p. 378—410 m. 1 Tfl. u. 3 Figg. im Text).

Ausgewachsenen großen Kaninchen wurden in Chloralhydratnarkose je 2 cc sterilisiertes auf 37° erwärmtes Olivenöl in eine mittelgroße Mesenterialvene, einmal auch in die Vena lienalis injiziert. Nach 5 bis 12 Tagen Tötung der Tiere durch Nackenschlag. Um

die Leber möglichst ihres physiologischen Fettgehaltes zu entledigen, wurden die Tiere mit Ausnahme eines Kontrolltieres 3 Tage vor dem Tode dem Hunger ausgesetzt. Unmittelbar nach dem Tode wurden Stücke in Formol und Flemmingscher Flüssigkeit fixiert, erstere wurden gefroren geschnitten, letztere in Celloïdin oder Paraffin eingebettet. Gefärbt wurde mit Sudan III und Scharlach R in konzentrierter alkoholischer (70prozentiger) Lösung, die Fixierung in Osmiumsäure wurde mehr zum Vergleiche verwendet. Scharlach und Sudan III sind vollständig gleichwertig; die Schnitte wurden hergestellt mit einem Jungschen sogenannten Studentenmikrotome mit Kohlensäure-Gefrierkammer. Bei guter Formolhärtung und daraufolgender Auswässerung gelingt es so, von jedem Organ genügend dünne Schnitte herzustellen, um eine Ölimmersion zu verwenden.

Schiefferdecker (Bonn).

Srdinko, O. V., Eine sichere Methode zur Differenzierung der Rinden- und Markelemente der Nebenniere, besonders bei Säugetieren und Menschen (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 6, p. 172—174 m. 1 Fig.).

Verf. hebt hervor, daß die Chromreaktion bei der Untersuchung der Nebenniere von Säugetieren und vom Menschen vollständig im Stiche läßt, da die dritte Schicht der Rinde (die Zona reticularis) von Natur braun gefärbt ist, gerade so wie die Zellen der Marksubstanz nach Chrom-Salzsäurelösung. Verf. hat seine früher schon angegebene Hämatoxylinmethode infolgedessen soweit vervollkommnet, daß man selbst Gruppen oder einzelne in der Rindenschicht eingestreute Markzellen sicher unterscheiden kann. Methode: Die Nebenniere des Menschen wird sobald als möglich nach dem Tode herauspräpariert (längstens 24 Stunden) und in eine 4- bis 5prozentige Formollösung gebracht für 7 bis 14 Tage, Erneuerung der Lösung alle 2 Tage. Kurzes Auswaschen (etwa 30 Minuten) in destilliertem Wasser. 70prozentiger Alkohol 24 Stunden, 90prozentiger Alkohol für die Dauer, bis zur Einbettung in Celloïdin oder Paraffin. Färbung der Celloïdinschnitte mit der reifen Böhmerschen Hämatoxylinlösung (nach dem Rezept der Friedländerschen Technik, p. 104), die Zeit der Färbung schwankt zwischen einer bis 10 Minuten. Die überfärbten Schnitte zeigen zwar schon makroskopisch eine Differenzierung zwischen Mark- und Rindensubstanz, eignen sich aber nicht zu histologischen Untersuchungen. Am zweckmäßigsten

färbt man in einer Mischung der genannten Hämatoxylinlösung mit destilliertem Wasser zu gleichen Teilen etwa 5 Minuten, dann Auswaschen von 5 Minuten in destilliertem Wasser, dann schließlich Einschluß in Kanadabalsam. Eventuell kann man solche Präparate auch noch mit Eosin färben. Diese Hämatoxylinlösung kann man auch nach andern Fixierungsflüssigkeiten verwenden, so nach Sublimat oder Lösung von Carnoy, nach Formol wirkt sie aber am besten.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Pensa, A., Osservazioni sulla distribuzione dei vasi sanguigni e dei nervi nel pancreas (Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXII, 1905, H. 1—3, p. 90—126 m. 6 Tfln. u. 5 Figg.).

Verf. hat Tiere aus allen Wirbeltierklassen untersucht. Die Blutgefäße wurden entweder an dem injizierten Pankreas studiert oder besonders, um die Beziehungen zwischen den Blutgefäßen und den Elementen der Langerhansschen Inseln festzustellen, einfach nach Fixierung und Färbung mit den gewöhnlichen Methoden. Zur Fixierung wurden verwendet: die Flüssigkeit von Mingazzini, die von Gilson, die von Rabl, Sublimat-Essigsäure (5- bis 10prozentige Essigsäure), Zenkersche Flüssigkeit, Hermannsche Flüssigkeit, Flemmingsche Flüssigkeit, die vier letzten erwiesen sich als die besten. Gefärbt wurde außer mit den gewöhnlichen Methoden mit dem Eisenhämatoxylin von Heidenhain, nach der Methode von Mann, der von Biondi, der von Galeotti. Injiziert wurde mit der Karmingelatine von Ranvier (Traité technique d'histologie, p. 103) der Karmingelatine von Fol (Zeitschr. f. wiss. Zoologie 1883), der Berlinerblau-Gelatinemasse von Ranvier (Traité technique d'histologie, p. 106), der blauen Leiminjektionsmasse von Grübler, der roten Leiminjektionsmasse (nach Spalteholz) von Grübler. Die Injektionen wurden ausgeführt bei den Fischen vom Bulbus arteriosus aus, bei den Reptilien und Vögeln direkt vom Herzen aus, bei den Säugetieren vom letzten Ende der Aorta abdominalis aus. Die Veneninjektionen wurden ausgeführt von einigen Ästen der Venae mesentericae aus. Alkoholhärtung und Celloïdineinbettung. Um die Langerhansschen Inseln deutlich zu machen, bediente sich Verf. der Thionin-Karbolfärbung von Grand-Moursel und Tribondeau[1] oder der aufeinanderfolgenden Färbung mit Thionin und Pikrinsäure von Perdigeat und

[1]) C. R. de la Soc. d. Biol. t. LIII, no. 7, Paris.

Tribondeau.[1] Gute Gefäßinjektionen wurden auch erhalten durch ziemlich allmähliche Injektion von Leinöl und darauffolgende Fixierung in osmiumhaltigen Flüssigkeiten (Hermannscher und Flemmingscher Flüssigkeit). Auch diese Stücke können in Paraffin eingeschlossen, geschnitten und mit allen jenen Färbungen behandelt werden, welche nach diesen Fixierungsflüssigkeiten anwendbar sind. Diese Methode, welche eine ausgezeichnete Fixierung und gute Färbungen gestattet, erwies sich besonders vorteilhaft bei der Untersuchung der genauen Beziehungen zwischen den Blutgefäßen und den Elementen der Langerhansschen Inseln. — Zum Studium der Nerven verwandte Verf. die direkte und die indirekte schnelle Golgische Chromsilbermethode. Mit der schnellen indirekten Methode waren die Resultate feiner und vollständiger. Am praktischsten erwies sich dabei die Behandlung mit einer halbgesättigten Lösung von Kupfersulfat und darauffolgender Übertragung der Stücke in Kaliumbichromat vor der Übertragung in Silbernitrat. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Schmidt, J. E., Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie einiger Zellarten der Schleimhaut des menschlichen Darmkanales (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 12—40 m. 1 Tfl.).

Außer Sublimatmaterial wurde hauptsächlich das in einem Gemisch aus Müllerscher Flüssigkeit und Formol fixierte untersucht, daneben solches aus 10- oder 4prozentigem Formol und aus Alkohol. Die mit Glyzerin-Eiweiß aufgeklebten Schnitte wurden meist mit Hämatoxylin-Eosin, Hämatoxylin-Mucikarmin, Alaunkarmin oder nach van Gieson gefärbt. *E. Schoebel* (*Neapel*).

Abrikossoff, A. J., Über die ersten anatomischen Veränderungen bei Lungenphthise (Virchows Arch. Bd. CLXXVIII, 1904, H. 2, p. 173—263 m. 1 Tfl.).

Es wurden Stückchen aus den Lungen und Lymphknoten eingelegt. Zum Zwecke des Studiums der Verbreitung der Tuberkelbazillen aus den tuberkulösen Drüsen wurden Stücke aus letzteren zusammen mit den anliegenden Bronchial- und Gefäßwänden entnommen; Härtung in 5prozentiger Formollösung, Celloïdin-, seltener Paraffineinbettung; Färbung der Schnitte mit Hämateïn und Eosin,

[1]) Extrait des procès verbaux de la Soc. Linnéenne de Bordeaux, t. LV, séance, 26 oct. 1900.

sowie auf Tuberkelbazillen nach ZIEHL. Lungenstückchen wurden in der ersten Zeit gehärtet in der von ARRIGO und STAMPACHIA speziell für tuberkulös affizierte Gewebe empfohlenen Flüssigkeit: Nach der Ansicht dieser Autoren wird durch Härtung in 2prozentiger spirituöser (90prozentiger) Pyrogallussäurelösung eine vollendetere Färbung der Tuberkelbazillen erzielt und weniger als mit andern fixierenden (spirituösen) Flüssigkeiten das Gewebe zur Schrumpfung gebracht. Verf. überzeugte sich indessen, daß bei Verwendung der genannten Flüssigkeit das Pyrogallol die Eigenschaft besitzt, die Gewebe braun zu färben; diese Färbung bleibt sogar nach gründlicher Spülung mit Alkohol zurück und ist bei der nachfolgenden Färbung der Schnitte sehr störend; ferner erhält man bei Einbettung der Stücke, welche eine käsige Masse enthalten und in der Pyrogallollösung fixiert worden sind, in Paraffin eine so feste Konsistenz, daß Schnitte schwer herzustellen sind. Die HAYEMsche Sublimatlösung ist nur für sehr kleine Stückchen brauchbar und unterscheidet sich in ihrer Wirkung nicht von der gewöhnlichen Sublimatlösung in physiologischer Kochsalzlösung. Verf. hat weiter die Methode von AUFRECHT geprüft: Härtung in 5prozentiger Lösung von Kaliumbichromat, Aufleimen des Stückchens zum Schneiden auf einem Kork; diese ist (ohne Einbettung in Celloïdin oder Paraffin) völlig untauglich für feine Schnitte oder Serienschnitte. Da Verf. häufig Stücke von bedeutender Dicke zu härten hatte, benutzte er am häufigsten eine 5prozentige Formollösung: Nur wo es möglich war, ein sehr kleines Stückchen zu nehmen, verwandte er eine gesättigte Sublimatlösung in Kochsalzlösung (24 Stunden im Ofen bei 37°). Verf. hebt hervor, daß bei vergleichender Bazillenfärbung ein Unterschied zwischen der Härtung nach ARRIGO und STAMPACHIA und der einfachen Formolhärtung nicht zu finden war. Sämtliche Lungenstückchen wurden in Paraffin eingebettet, die Serienschnitte auf den Objektträgern nach GAULE aufgeklebt, das Paraffin mit Xylol entfernt. Zur Probefärbung wurde Hämateïn und Eosin verwendet. Um die Strukturverhältnisse in dem von dem tuberkulösen Prozesse befallenen Bezirke des Lungengewebes möglichst klar zu stellen, wurden die Serienschnitte mit Methoden zur Färbung des elastischen Gewebes behandelt: Entweder der WEIGERTsche Farbstoff mit vorhergehender Karminfärbung der Kerne oder weit häufiger der von MINERVINI. Bei letzterem entfärbt sich bei der Differenzierung das übrige Gewebe viel vollkommener als bei der WEIGERTschen Methode, es treten daher die elastischen Fasern sehr deutlich bis zu ihren feinsten Verzweigungen hervor.

Ferner werden die Kerne bei der Minervinischen Methode vorher mit Hämateïn gefärbt, wodurch ein weit deutlicheres Bild entsteht als bei der Karminfärbung mit der Weigert-Methode. Ferner färbte Verf. auf Tuberkelbazillen: Aus der nach Minervini gefärbten Serie wurde jeder 10. bis 20. Schnitt genommen, der Reihe nach auf den Objektträger gebracht und nach Ziehl gefärbt. Sehr schöne Präparate wurden bei kombinierter Färbung der elastischen Fasern, Bazillen und Zellkerne erhalten: Färbung der Serienschnitte (auf Objektträgern) in Karbolfuchsin nach Ziehl (30 Minuten im Ofen bei 37°), Entfärbung mit 25prozentiger Schwefelsäurelösung, gründliches Auswaschen in Wasser, Färbung in der Lösung von Minervini (45 bis 60 Minuten), Differenzierung in 85prozentigem Alkohol, Kernfärbung in wässeriger Methylenblaulösung. Die rosarot gefärbten, elastischen Fasern waren gut von den himbeerrot gefärbten Bazillen zu unterscheiden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Pighini, G., Sur l'origine et la formation des cellules nerveuses chez les embryons des Sélaciens (Bibliogr. anat. t. XIV, 1905, fasc. 1, p. 94—105 av. 3 figg.).

Die Untersuchungen des Verf. beziehen sich auf folgende sechs Arten: Pristiurus melanostomus, Torpedo ocellata, Scyllium canicula, Scyllium catulus, Mustelus vulgaris, Mustelus laevis. Fixiert wurde stets mit einer gesättigten Sublimatlösung. In dieser verblieben die kleinsten Embryonen (nicht größer als 6 bis 7 mm) eine halbe Stunde; die größeren (von 8 bis 14 m) eine Stunde; solche über 2 cm höchstens 3 Stunden; diese letzteren wurden außerdem der Quere nach in Stücke von 3 bis 4 mm Dicke zerlegt, um die Fixierungsflüssigkeit besser eindringen zu lassen. Was die Färbung anlangt, so wird diese verschieden ausgeführt, je nach der Größe der Embryonen. Die Embryonen, welche nicht größer als 3 cm sind, werden in toto gebeizt, bei denen über 3 cm beizt man die Schnitte. Weitere Behandlung: 1) Embryonen von 4 bis 30 mm. Aus dem Jodalkohol überträgt man in destilliertes Wasser, das man während der 15 bis 30 Minuten des Auswaschens zweimal wechselt. Dann überträgt man in die folgende Beize:

Sublimat, 4prozentige Lösung	10 cc
Ammoniummolybdat (Merck), 4prozentige Lösung	40 „
Salzsäure	12 Tropfen.

Je nach ihrer Länge verbleiben die Embryonen darin 2 bis 6 Stunden; dann gründliches Auswaschen in destilliertem Wasser (1 bis 3 Stunden), dann steigender Alkohol, Xylol, Einschluß in Paraffin (Temperatur nicht über 52°), Färbung der Schnitte in einer Lösung von Thionin oder Toluidinblau von 1 : 5000. Die Thioninlösung ist vorziehbar. Nachdem die Präparate 15 Minuten in der Farbflüssigkeit gewesen sind, muß man die weitere Färbung mit dem Mikroskope kontrollieren. Ist die Färbung genügend, so werden die Schnitte schnell in Wasser abgewaschen und für einige Sekunden in gewöhnlichen Alkohol (alcool ordinaire) gebracht, um eine schärfere Differenzierung zu erhalten. Neues Eintauchen in Wasser und Übertragen für 15 Minuten in eine 4prozentige Lösung von Ammoniummolybdat, der man 2 bis 3 Tropfen Salzsäure zusetzt; hierdurch wird die Farbe stark fixiert; dann sorgfältiges Auswaschen in Wasser, Entwässerung in steigendem Alkohol, Xylol, Balsam. 2) Embryonen von mehr als 3 cm Länge. Nach Jodalkohol steigender Alkohol und Paraffineinschluß. Die mit Wasser auf den Objektträger aufgeklebten Schnitte kommen für wenigstens 18 Stunden in die folgende Beize:

Sublimat, 4prozentige Lösung	50 cc
Ammoniummolybdat (Merck), 4prozentige Lösung	100 „
Salzsäure	25 Tropfen.

Nach gründlichem Auswaschen in destilliertem Wasser färbt man wie oben. — Bei dieser Methode werden alle Elemente des Nervensystems samt ihren Fortsätzen gefärbt, und man vermag diese letzteren zu verfolgen von dem ersten Stadium der bipolaren, spindelförmigen Zelle an (von den Zellen, welche zuerst die Nervenrinne bilden) bis zu der Differenzierung in Nerven- oder Neurogliafasern.

Schiefferdecker (Bonn).

Valedinsky, I. A., Zur Frage über die Nervenknoten im Herzventrikel einiger Säugetiere. Vorläufige Mitteilung (Anat. Hefte, Heft 81 [Bd. XXVII, H. 1] 1904, p. 287—293 m. 2 Tfln.).

Es ist immer noch zweifelhaft, ob und in welcher Ausdehnung sich Nervenknoten im Herzen finden. Verf. hat daher von neuem diese Frage in Angriff genommen. Das Herz eines eben getöteten Tieres wurde in 7prozentige wässerige Karbollösung getan (nach Shuk). Diese Prozentzahl entspricht nicht der Löslichkeit des Phenols,

die etwas niedriger liegt. So wurden die Nerven des Ventrikels gehärtet und traten auf der ganzen Oberfläche sehr deutlich hervor. In ihrem Verlaufe teilen sich die Nerven vielfach und bilden Anastomosen mit benachbarten Nervenstämmen. Im Verlaufe der Stämme und häufiger noch an den Stellen der Anastomosen können mit bloßem Auge sichtbare Verdickungen wahrgenommen werden. Nach genügender Einwirkung der Karbolsäurelösung (die Zeitdauer ist nicht angegeben) befreite Verf. in einem Teile der Fälle mittels einer anatomischen Pincette irgendeinen Nervenstamm von dem ihn umgebenden Gewebe des Perikards, zog ihn hervor und legte ihn auf 24 Stunden in Pikrokarmin, dann leichtes Abspülen in Wasser, angesäuertes Glyzerin, Zerzupfen in diesem mit Nadeln, Aufheben in demselben Glyzerin. In einem anderen Teile der Fälle schnitt Verf. den Nerven mit einem Teile des Perikardiums und Myokardiums aus und bettete die Stückchen in Celloïdin ein; dann Mikrotomschnitte parallel der Oberfläche des Perikards, Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. Die erstere Behandlung wurde da angewendet, wo die Nerven des Ventrikels mehr oder weniger dick waren, häufige Verdickungen aufwiesen und sich leicht zerzupfen ließen, wie dieses in den oberen Teilen des Ventrikels der Fall ist. Die zweite Art der Behandlung wurde angewendet bei der Untersuchung der Herzspitze, wo die Nerven dünn sind und der Herstellung von mikroskopischen Zupfpräparaten größere Schwierigkeiten bieten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Ramón y Cajal, S., y **Garcia, D. D.,** Las lesiones del retículo de las células nerviosas en la rabia (Trab. Labor. Investig. Biol. Madrid t. III, 1904, fasc. 4, p. 213—266 c. 28 figg.).

Um die Veränderungen in den Nervenzellen bei der Hundswut (Kaninchen, Hund) festzustellen, kann man zunächst die gewöhnliche von Cajal angegebene Methode benutzen: Die Stücke kommen für 3 Tage in eine Silberlösung von 1·5 Prozent (im Ofen bei 28° bis 40°), kurzes Abwaschen in destilliertem Wasser, 24 Stunden in die Pyrogallol-Formolmischung, dann Abwaschen in Wasser ein paar Minuten lang, 6 Stunden in Alkohol, dann Aufkleben der Stücke, ohne sie in Celloïdin einzubetten, mit einem heißen Skalpell auf einen Paraffinblock. Von den Schnitten, die man auf diese Weise erhält, soll man weder die oberflächlichen noch die tiefen, sondern die mittleren untersuchen, welche hellbraun gefärbt sind. Auf diese Weise färben sich die hypertrophischen Neurofibrillen bis zu den kleinen

Nervenzellen hin. Indessen muß man, um gute Präparate zu erhalten, die folgenden Regeln beobachten: 1) Die Stücke des Nervengewebes dürfen höchstens 2 bis 3 mm dick sein, und es dürfen nicht mehr als 5 bis 6 in die Silberlösung eingelegt werden. 2) Die Menge der Silberlösung soll groß sein im Verhältnis zu den Stücken; so soll man z. B. für 4 bis 6 Nervenstückchen 150 bis 200 cc der Silberlösung verwenden. 3) Wenn man am Hunde arbeitet, und die Nervenstücke verhältnismäßig groß sind, so soll man dieselben in verschiedene Stücke zerlegen und die Einwirkungszeit der Silberlösung vergrößern (um einen bis 2 Tage). — Wenn man nicht sehr rasch arbeiten muß, ist die Methode mit Fixierung in Alkohol noch vorziehbar. Man erhält mit dieser eine größere Anzahl von brauchbaren Schnitten, fast durch das ganze Stück durch, mit einziger Ausnahme der oberflächlichsten. Man erhält ferner neben dem Zellnetze auch alle markhaltigen und einen großen Teil der marklosen Nervenfasern gefärbt. Man erhält weiter in vielen Zellen eine sehr scharfe und ausschließliche Färbung der hypertrophischen Neurofibrillen. Endlich, und das ist ein unschätzbarer Vorteil, kann man für diese Färbung auch Stücke verwenden, die schon eine Reihe von Tagen in Alkohol gelegen haben, und das ist bei den Verhältnissen, welche notwendigerweise in den zur Heilung der Hundswut errichteten Instituten herrschen, sehr wichtig. Die Organe des Nervensystems werden am besten in einem Alkohol von 40° (Cartier) oder in absolutem Alkohol gehärtet. Im übrigen wird nach den früher von Cajal gemachten Angaben verfahren. *Schiefferdecker (Bonn).*

Ramón y Cajal, S., Neuroglia y neurofibrillas del lumbricus (Trab. Labor. Investig. Biol. Madrid t. III, 1904, fasc. 4, p. 277—285 c. 4 figg.).

Die nervösen Organe von Lumbricus müssen eine andere chemische Beschaffenheit besitzen als die von Hirudo, denn sie ergeben mit der von Cajal angegebenen Silbermethode niemals eine Färbung der Neurofibrillen, wie sie bei Hirudo so gut gelingt. Die gewöhnliche Methode (direkte Silberfärbung in 3- bis 6prozentiger Lösung, 3 Tage im Ofen) läßt nur die Holmgrenschen Kanälchen vortreten. Dagegen ergibt sich eine schöne Neurogliafärbung, wenn man vorher mit Formol oder mit Formol und Ammoniak fixiert: 1) Stücke vom Regenwurm kommen für 24 Stunden bei Stubentemperatur in die folgende Mischung: Destilliertes Wasser 40 cc; Formol 10 cc; Ammoniak 4 bis 6 Tropfen. 2) Mehrstündiges Auswaschen der Stücke

in destilliertem Wasser. 3) Übertragen in eine 3prozentige Silberlösung, 4 bis 5 Tage im Ofen bei 30° bis 35°. 4) Reduktion in der Pyrogallol-Formolmischung etc. Wenn man die Stücke nach Behandlung mit der für die Formol-Ammoniakfixierung angegebenen Pyrogallollösung 6 bis 24 Stunden lang in Alkohol legt, und dann in eine 0·2prozentige Lösung von neutralem Goldchlorid (für 2 Tage), so erhält man eine violette Imprägnierung der Neurofibrillen in den Ganglienzellen. Diese Reaktion entsteht durch den Niederschlag des Goldes durch den Rest des Pyrogallols, der von dem Alkohol aus den Stücken nicht ausgezogen worden ist. Wie alle Goldfärbungen der Neurofibrillen, so ist auch diese unsicher. In den wenigen Fällen, in denen Verf. gute Präparate erhalten hat, handelte es sich immer um kleine oder junge Regenwürmer. Verf. ist noch dabei, die Bedingungen zu untersuchen, welche für die Herstellung guter Präparate nötig sind. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Varela de la Iglesia, R., Contribución al estudio de la médula espinal (102 pp., c. 22 laminas en fototipia. Madrid 1904, Ricardo Fé [Der Text ist spanisch und französisch]).

Verf. hat versucht das Nervenmark aufzulösen und dann die gewöhnlichen Färbungsmethoden mehr oder weniger modifiziert anzuwenden. Die Rückenmarkstücke wurden fixiert in MÜLLERscher Flüssigkeit und dann in steigendem Alkohol gehärtet in gewöhnlicher Weise; noch besser wirkt die Fixierung in der KULTSCHIZKYschen Flüssigkeit. Auch kann man in einer gesättigten Lösung von Kupferacetat und Kaliumbichromat in 50prozentigem Alkohol fixieren und dann in steigendem Alkohol nachhärten, wobei man jede Lichteinwirkung vermeidet. Auch die Methode von HAUG[1] liefert sehr schöne Resultate. Alle Flüssigkeiten, bei denen Kupfersalze verwendet werden, sind brauchbar. Die fixierten, gehärteten und entwässerten Objekte wurden für einige Tage in Schwefelkohlenstoff oder Chloroform gebracht. Sodann wurden die Stücke in immer stärker konzentrierte Lösungen der Einbettungsmasse gebracht, schließlich in diese in reinem Zustande bis sie durchtränkt waren. Als Einbettungsmasse wurde im allgemeinen Pflanzenwachs („Cera vegetal", „cire végétale"), welches in bestimmter Weise behandelt war, verwendet. Verf. gibt verschiedene Methoden an, um dieses Pflanzenwachs in

[1] Vgl. diese Zeitschr. Bd. VII, 1890, p. 154.

richtiger Weise herzustellen. Er hat jene Sorte genommen, welche in seiner Heimat (Santiago) als „cera del Japón“ bezeichnet wird. Eine sehr gute Masse wurde aus diesem Stoffe erhalten durch Behandlung derselben mit Chloroform. Welche Methode der Behandlung dieses Pflanzenwachses auch angewandt wurde, so wurde schließlich die Masse von ihren flüssigen Teilen durch Auspressen befreit und auf ein Schälchen gebracht, das man, bis zur völligen Verdunstung der Flüssigkeit, in den Ofen stellte. Wurde Paraffin angewendet, so wurde Schwefelkohlenstoff als Lösungsmittel gebraucht, bei Pflanzenwachs dagegen Chloroform. Die 5 bis 10 μ dicken Schnitte wurden auf dem Deckgläschen befestigt, bald mittels des Strasserschen Kollodiums No. 0[1], bald mittels der Methode von Fraenzel[2] (Lösung von Gummi arabicum mit Zusatz von wässeriger Lösung von Chromalaun). Die so behandelten Deckgläschen wurden in Chloroform gebracht zur Härtung des Kollodiums, zur Lösung des Pflanzenwachses und hauptsächlich zur Einwirkung auf das Nervenmark (12 bis 24 Stunden mit zwei- bis dreimaliger Erneuerung der Flüssigkeit, ein längerer Aufenthalt schadet nichts). Mit Schwefelkohlenstoff wurde ebenso verfahren, und zwar noch nach der Behandlung mit Chloroform. Dann wurden die Deckgläschen an der Luft liegen gelassen, bis der Schwefelkohlenstoff vollständig verdunstet war, darauf wurden sie mit einer Mischung von gleichen Teilen von 96- bis 98prozentigem Alkohol und Benzin befeuchtet und darauf mit 95prozentigem Alkohol. Hierauf Übertragen durch immer schwächere Alkohole bis in die zur Beizung nötige Flüssigkeit. Gebeizt und gefärbt wurde nach der Methode von Wolters[3] (Vanadiumchlorid mit Aluminiumacetat, Hämatoxylin-Essigsäure, Salzsäurealkohol). Verf. bespricht dann weiter eingehend die Behandlung und Aufbewahrung von Serienschnitten in verschiedener Weise, weswegen auf das Original verwiesen wird.

Schiefferdecker (Bonn).

Donaldson, H. H., a. Hoke, G. W., On the Areas of the Axis Cilinder and medullary Sheath as seen in cross Sections of the Spinal Nerves of Vertebrates (Journ. Compar. Neurol. and Psychol. vol. XV, 1905, no. 1, p. 1—16 w. 1 fig.).

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. VII, 1890, p. 309.

[2]) Bolles Lee et Henneguy, Traité des méthodes techniques.

[3]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. VII, 1890, p. 471.

Die Nerven wurden Tieren aus allen Wirbeltierklassen entnommen, welche durch Chloroform getötet wurden. Die Nerven, gewöhnlich vom Armplexus, wurden freigelegt und teilweise in situ mit einprozentiger Osmiumsäurelösung fixiert. Nach einer halben Stunde wurde der Nerv herausgenommen und auf ein Stück Karton übertragen, um Schrumpfung zu verhindern, und wieder in eine einprozentige Osmiumsäurelösung für 24 Stunden gebracht. Die 3 bis 5 μ dicken Schnitte wurden in Kolophonium aufgehoben.

Schiefferdecker (Bonn).

Ruffini, A., Di una nuova guaina [guaina sussidiaria] nel tratto terminale delle fibre nervose di senso nell'uomo (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX, 1905, p. 150—170 c. 2 tavv.).

Zur Darstellung der neuen Nervenscheide bringt man am besten kleine Stücke Haut oder Muskeln für wenigstens eine halbe Stunde in ein frisch bereitetes Gemisch aus 66 Teilen 10prozentiger Ameisensäure (oder falls die vorhandene Säure keine konzentrierte ist, der Verdünnung entsprechend höhere Prozente), und 34 Teile gesättigter Sublimatlösung und dann nach flüchtigem Waschen in fließendem Wasser für 20 oder 40 Minuten in eine einprozentige Lösung von Goldchlorid. Nach sorgfältigem Abtrocknen der Stücke mit Fließpapier oder einem reinen Tuch werden sie 12 bis 15 Stunden mit einprozentiger Ameisensäure in einem Glasgefäß behandelt und dann, ohne die Flüssigkeit zu wechseln, 6 bis 8 Stunden den direkten Sonnenstrahlen ausgesetzt; hierbei dreht man das Gefäß von Zeit zu Zeit, damit die Stücke gleichmäßig von allen Seiten besonnt werden. Nach Ablauf der entsprechenden Zeit trocknet man wieder sorgfältig mit Fließpapier ab und bringt die Objekte für 8 bis 10 Tage in Glyzerin, um sie nachher zu zerzupfen und in Glyzerin einzuschließen. Bei gelungener Färbung ist die Markscheide dunkelviolett, bei stärkerer Färbung fast schwarz, bei leichter Färbung rötlichviolett, die Hilfsscheide hellviolett, stellenweise mit einem Stich ins Rosa, die Henlesche Scheide rosa mit einem leichten Schein ins Violett.

E. Schoebel (Neapel).

London, E. S., Zur Lehre von dem feineren Bau des Nervensystems (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 111—115 m. 1 Tfl.).

Als Untersuchsmaterial wurden Blutegel, Maus und Hund benutzt.

Außer der Apáthyschen Goldmethode, die leider nur selten befriedigende Resultate gab, kam vor allem die neue Ramón y Cajalsche Fibrillenmethode zur Anwendung, die nach den Erfahrungen des Verf. am besten in folgender Weise ausgeführt wird: Stücke beliebiger Größe, sogar ganze Tiere, wenn es sich um embryologische Studien handelt, kommen in ammoniakhaltigen Alkohol (4 cc Ammoniak, 96 cc Alkohol). Nach 24 Stunden werden die Stücke in Scheiben von 2 bis 3 mm Dicke zerlegt und in frischen ammoniakhaltigen Alkohol gebracht, wo sie weitere 24 bis 48 Stunden verbleiben. Nach 5 bis 10 Minuten langem Auswaschen in destilliertem Wasser wird im Brutschrank bei 35 bis 37° C. 3 bis 6 Tage mit $1^1/_2$prozentiger Silbernitratlösung imprägniert, dann nach sorgfältigem Abtrocknen mit Fließpapier bei diffusem Licht mit Pyrogallollösung (2 g Pyrogallol, 5 cc Formol, 100 destilliertes Wasser) behandelt und dann durch die verschiedenen Alkohole und Chloroform in Paraffin übergeführt und eingebettet. Die vom Paraffin befreiten Schnitte werden dann 5 bis 10 Minuten mit einprozentiger Goldchloridlösung vergoldet und schließlich noch die gleiche Zeit mit einer 5prozentigen Lösung von unterschwefligsaurem Natron behandelt und in üblicher Weise eingeschlossen. So bearbeitete Stücke sind frei von Niederschlägen und liefern fast durch die ganze Dicke des Stückes befriedigend gefärbte Schnitte. *E. Schoebel (Neapel).*

C. Bakterien.

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Jahrg. XIII, 1902. Leipzig (S. Hirzel) 1905; VIII u. 672 pp. 16 M.

Der vielseitige Inhalt des Jahresberichts berührt die Interessen unserer Zeitschrift vornehmlich in dem Abschnitt, der über „Arbeitsverfahren, Apparate etc." handelt und in dem einige neue Färbeverfahren zur Sprache kommen. Auf die betreffenden Referate sei um so mehr verwiesen, als nicht über alle im „Jahresbericht" besprochenen Arbeiten in den Bänden dieser Zeitschrift berichtet worden ist. Im besonderen machen wir aufmerksam auf v. Wendts Methode „Bakterien ohne Trocknen an Deck- und Objektgläser zu fixieren" (Zentralbl. f. Bakteriol. Bd. XXXI), bei welcher die Bakterien durch koagulierendes Eiweiß, das als Eiweißglyzerin auf die Gläser auf-

getragen wird, befestigt werden und nicht solche Strukturveränderungen erfahren, wie beim Fixieren durch Trocknen. FICKER (Hygien. Rundsch.) färbt die Körnchen der Bakterien mit Methylenblau-Milchsäure, die durch Kampferzusatz haltbar gemacht wird. GUIRAUD und GAUTIÉ (C. R. Soc. Biol. 1901) beschreiben eine Methode zur Färbung alten schwer tingierbaren Bakterienmaterials. — Auch auf die Kapitel Nährböden, Sterilisation, Thermostaten, Züchtung von Anaërobien sei verwiesen. *Küster (Halle a. S.).*

Giemsa, G., Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der ROMANOWSKY-NOCHTschen-Chromatinfärbung (Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 2, p. 308).

Die bisher von dem Verf. angegebenen Färbemethoden waren — auch nach seiner eigenen Ansicht — nicht frei von störenden Niederschlägen und Ungenauigkeiten, so daß auch nicht allseitig gute Resultate bei der Chromatinfärbung erzielt wurden. Durch zweckmäßiges Ausprobieren empfiehlt jetzt GIEMSA seine neue Farblösung unter dem Namen „GIEMSAsche Lösung für die ROMANOWSKY-Färbung"; sie wird folgendermaßen hergestellt:

Azur II-Eosin . . . . 3·0 g und
Azur II . . . . 0·8 „

werden im Exsikkator unter Schwefelsäure getrocknet, aufs feinste gepulvert, durch ein feines Sieb getrieben und in

Glyzerin (MERCK chem. rein) . . . . 250·0 g

bei 60° unter Schütteln gelöst, hierauf wird

Methylalkohol (KAHLBAUM I) . . . . 250 g

hinzugefügt, den man vorher auf 60° erwärmt hat, gut geschüttelt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und filtriert. Die Ausführung der Färbung geht dann folgendermaßen vor sich:

1) Härtung des lufttrockenen Ausstrichs in Äthyl oder — 2 bis 3 Minuten — Methylalkohol.

2) Verdünnung der fertigen Farblösung mit Wasser in einem weiten graduierten Reagensglas (1 Tropfen der Farblösung auf etwa 1 cc Aq. dest.), wobei man am besten eine Tropfflasche benutzt.

3) Übergießen der Präparate mit der frischen verdünnten Lösung (10 bis 15 Minuten).

4) Abwaschen in scharfem Wasserstrahl.

5) Abtupfen mit Fließpapier, trocken werden lassen und einbetten in Kanadabalsam. *W. Hoffmann* (*Berlin*).

Zlatogoroff, S. J., Zur Mikrobiologie der Masern (Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 2, p. 249).

Obwohl schon von einer größeren Zahl von Autoren bei Masernerkrankungen teils Protozoën, teils Bakterien gefunden sind, ist doch eine Einigung auf diesem Gebiete bisher noch nicht erfolgt. Verf. hat sich deshalb erneut der Ätiologie der Masern zugewendet und bei ca. 30 Masernkranken den Nasenschleim, das Konjunktivalsekret und das Blut untersucht, und zwar in demjenigen Krankheitsstadium, wo Fieber und die katharrhalischen Erscheinungen auf dem Höhepunkt waren. Er benutzte neben Glyzerinagar auch Blut- und Ascitesnährböden.

In dem Nasenschleim fand er nur einmal eine Bakterienart, die dem im Blut und im Konjunktivalsekret gefundenen ähnlich war. Aus dem Augenbindehautsack wuchs gewöhnlich das Xerosestäbchen, sowie ein diesem sehr ähnlicher, aber sehr wenig widerstandsfähiger Bacillus, der auf den Nährböden äußerst kümmerlich wuchs und bald einging.

Von dem Blut wurde stets 1 cc auf 25 bis 150 cc Nährflüssigkeit geimpft. 17mal konnte ein Bacillus von folgenden Eigenschaften isoliert werden. Färbbarkeit mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen und nach Gram. Er ist wenig beweglich, liegt gewöhnlich in Doppelexemplaren oder in Gruppen, zeigt hier und da Polfärbung. Er wächst in flüssigen Nährböden als feinflockiger Niederschlag, am besten zwischen 36 und 37° C. Er ist wenig beweglich und bildet keine Sporen. Er geht auf den Nährböden, selbst den optimalsten, leicht zugrunde. Die Tierversuche sind nicht eindeutig. Bei Kontrolluntersuchungen konnte diese Bakterienart niemals gefunden werden.

Verf. ist hiernach nicht in der Lage, ohne weiteres diesen Bacillus mit den Masernerkrankungen in ätiologische Beziehung zu bringen und behält sich eine kritische Würdigung seiner Befunde im Vergleich mit den bisher erhobenen für eine spätere Veröffentlichung vor. *W. Hoffmann* (*Berlin*).

Dworetzky, A., Erfahrungen mit der Spenglerschen Formalinmethode zur Reinzüchtung von Tuberkelbazillen aus Rakteriengemischen (Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 4, p. 626).

Die von SPENGLER angegebene Methode — Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XLII — mittels Formalin die Begleitbakterien in einem tuberkulösen Sputum abzutöten und dann die dem Formalin gegenüber resistenteren Tuberkelbazillen auf einem bestimmten Somatose-HEYDEN-Glyzerinagar zu kultivieren, ist von dem Verf. in einer größeren Anzahl von Versuchen mit negativem Ergebnis nachgeprüft worden. Auch selbst, wenn er mit der Formalinmenge weit unter die von SPENGLER angegebene Dosis ging, vermochte er niemals ein Wachstum von Tuberkelbazillen zu konstatieren. Nach seiner Ansicht werden auch die etwas resistenteren Tuberkelbazillen durch das Formalin auch derartig alteriert, daß sie sich auf festen Nährböden nicht mehr zu vermehren vermögen. Von anderer Seite wird die Methode besser bewertet.

W. Hoffmann (Berlin).

Ocker-Blom, M., Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit mit Bezug auf bakteriologische Zwecke (Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 1, p. 150).

Verf. gibt eine Methode an, um in bakterienhaltigen Nährböden die elektrische Leitfähigkeit zu bestimmen, nachdem er früher an anderer Stelle auf ähnliche Weise interessante Mitteilungen über die elektrische Leitfähigkeit der Eiweißspaltung bei Verdauungserscheinungen gemacht hat. Der Apparat ist, wie folgt, zusammengesetzt: Das mit einem gut geschliffenen Glasstöpsel versehene Widerstandsgefäß nebst seinen Platinelektroden wird mit zwei in den Stöpsel eingeschmolzenen Zuleitungsröhren, welche, mit Quecksilber gefüllt, die Leitung zu diesen vermitteln, ausgestattet. Ein drittes, ebenfalls durch den Stöpsel gehendes Glasrohr ist der Zugang zu der Nährflüssigkeit behufs bakterieller Impfung derselben. Der mit dem Nährboden beschickte Apparat kann mit Dampf sterilisiert werden. Verf. teilt seine mit diesem Apparat angestellten Versuche nicht mit und will hauptsächlich zu derartigen Versuchen über die elektrische Leitfähigkeit der Nährböden unter dem Einfluß — auch pathogener Bakterien — die Anregung geben. *W. Hoffmann (Berlin).*

Schüller, M., Über die Chromatinkörper der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen (Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 4, p. 547).

Verf. hat durch sorgfältige Färbungen die von ihm als angeb-

liche ätiologische Momente für Krebs- und Sarkomgeschwülste gefundenen Parasiten in bezug auf ihre innere Struktur untersucht. Er fand, daß überall im Carcinom- und Sarkomgewebe des Menschen kleinste runde, blasen- oder scheibenartige und keulenförmige Gebilde mit typischer, höchst eigenartiger Anordnung der Chromatinsubstanz verbreitet sind, und zwar als wesentliche Bestandteile der früher von ihm beschriebenen Parasiten. Er sieht hierin einen Beweis, daß diese Parasiten zu derjenigen Gruppe von Protozoën gehören, bei welchen typische Chromatinverteilung in den kleinsten, einfach gebauten Entwicklungsformen ein wesentliches Kriterium ist und spricht seine Ansicht hierüber dahin aus, daß in diesen Parasiten die erste und wichtigste Ursache der Krebs- und Sarkomentwicklung beim Menschen gefunden ist. Trotz des langen Bekanntseins der „Schüllerschen Parasiten“ haben sie eine allgemeine Anerkennung nicht finden können. *W. Hoffmann (Berlin).*

Zlatogoroff, S. J., Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere [Bac. pseudotuberculosis rodentium] (Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 3, p. 345).

Verf. unterzog sich der Aufgabe, an einer größeren Anzahl von in den verschiedensten Ländern isolierten Peststämmen festzustellen, ob sie morphologisch, kulturell und biologisch in ihren charakteristischen Eigentümlichkeiten übereinstimmen und stellt in dem letzten Teil seiner ausführlichen Arbeit dem Pestbacillus den Erreger der Pseudotuberkulose der Nagetiere in seinem Verhalten denselben Nährböden und demselben Immunserum gegenüber.

Zlatogoroff wies nach, daß sämtliche 22 Peststämme sich durchaus gleichmäßig auf den verschiedenen Nährböden verhielten und da er Abweichungen von dem normalen, allgemein bekannten Verhalten nicht konstatierte, erübrigt es sich, hierauf näher einzugehen.

Von Interesse dürfte es aber sein, die beiden Bakterienarten in ihrem kulturell-biologischen Verhalten miteinander zu vergleichen.

In Bouillon ist das Wachstum völlig gleich (keine Trübung, kleine Flocken), beide verflüssigen die Gelatine nicht, die Kolonien sind nur wenig am Rand verschieden, jedoch tritt das sichtbare Wachstum bei der Pest einen Tag später ein, auf Agar sind die Pestkolonien stärker gekörnt und ihre Ränder spielen im Gegensatz zur Pseudotuberkulose in allen Regenbogenfarben, beide bilden auf

Agar mit 3prozentigem Kochsalzzusatz Involutionsformen. Während das Wachstum des Pestbacillus auf der Kartoffel kaum wahrzunehmen ist, bildet der Pseudotuberkulosebacillus häufig eine blaßgelbe Membran. Verhalten in Milch, zuckerhaltigen Nährböden und Indolbildung — negativ — ist beiderseits gleich, ebenso ihr färberisches Verhalten. In der Pathogenität jedoch besteht ein deutlicher Unterschied, indem der Mensch, Affe und die Ratte von Pest infiziert werden können, während die Pseudotuberkulose Hühner, Kaninchen, Meerschweinchen, Hasen, selten den Menschen befällt. Beide Bakterienarten werden von dem Pestheilserum agglutiniert, während die Präcipitinreaktion nur mit einem Pestbazillenfiltrat eintritt. Der Hauptunterschied besteht aber darin, daß Pestheilserum gegen eine Pestinfektion schützen kann, während dies bei der Pseudotuberkulose der Nager nicht der Fall ist. *W. Hoffmann (Berlin).*

Nowack, K., Über die Grenzen der Verwertbarkeit des Malachitgrünagars (Arch. f. Hygiene Bd. LIII, H. 4, p. 374).

Verf. prüfte im Anschluß an die Veröffentlichungen von Klinger und Jorns den Malachitgrünagar zum Nachweis von Typhusbazillen in den menschlichen Stuhlentleerungen, indem er neben dem Drigalski-Conradischen Lakmusnutrosemilchzuckeragar auch den Endoschen Fuchsinagar in den Bereich seiner Untersuchungen vergleichsweise zog. Was die Konzentration des zu verwendenden Malachitgrüns betrifft, so fand er in Übereinstimmung mit den obigen Autoren, daß die Konzentration von 1 : 2000 bis 1 : 2500 von Malachitgrün No. 120 die besten Resultate liefert. Auch das Malachitgrün superfein benutzte er für seine Versuche, was er in entsprechend stärkerer Verdünnung ebenfalls ebensogut brauchbar fand. Ein Vorteil des Malachitgrünnährbodens den andern Kulturmethoden gegenüber besteht nach den Erfahrungen des Verf. besonders darin, daß man erheblich mehr Stuhlmaterial auf den Platten ausstreichen kann, wodurch die Aussicht, den Typhusbacillus auch in quantitativ geringer Verteilung noch aufzufinden, eine bessere wird; allerdings besteht auch hierin eine Grenze und in Fällen, wo man nur auf einige und vielleicht noch geschädigte Typhusbazillen in der Aussaat rechnen muß, versagt auch der Malachitgrünnährboden, auch, wenn die Zahl der Begleitbakterien eine verhältnismäßig geringe ist.

Auch der Endosche Nährboden erwies sich dem Verf. als sehr brauchbar. *W. Hoffmann (Berlin).*

Bordet, J., Une méthode de culture des microbes anaérobies (Ann. de l'Inst. Pasteur t. XVIII, 1904, p. 332).

Verf. verbindet die beiden bisher üblichen Methoden zur Herstellung eines Sauerstoff-freien Raumes. Nachdem die Kulturen in ein zylindrisches Glasgefäß gestellt sind, wird auf dieses eine Glasglocke, deren Boden in der Mitte eine Öffnung mit nach innen erhöhtem Rande hat, und die einen mit einem Hahne versehenen Stopfen besitzt, gestülpt, nachdem ein Stück mit Pyrogallussäure getränktes Fließpapier auf den Boden der Glocke gelegt ist. Der Apparat wird schief gestellt, das Fließpapier an die höchste Stelle des Bodens gebracht, Ätzkali in die Glocke gegossen, so daß das Fließpapier nicht getroffen wird, und nun wird die Luft möglichst ausgepumpt. Wird dann das Gefäß horizontal gestellt, so mischen sich Ätzkali und Pyrogallussäure und jede Spur Sauerstoff wird absorbiert.

Freund (Halle a. S.).

Triollet, M., Dispositif pour stériliser le catgut à l'autoclave (Ann. de l'Inst. Pasteur t. XVIII, 1904, p. 267).

Um Catgut wasserfrei zu sterilisieren, nach der Sterilisation aber mit Wasser ohne Luftzutritt in Berührung zu bringen, wickelt Verf. den Catgut um eine offene, mit Wasser gefüllte Flasche, setzt diese in eine andere mit Essigsäure gefüllte Flasche, verschließt hermetisch und sterilisiert bei 120^0 40 Minuten lang. Nach dem Erkalten kehrt er den Apparat um, wobei Wasser und Essigsäure sich mischen. *Freund (Halle a. S.).*

Nicolle, F., Suite d'expériences relatives au phénomène de l'agglutination des microbes (Ann. de l'Inst. Pasteur t. XVIII, 1904, p. 210).

Verf. wünscht für die Untersuchung der Agglutination eine einheitliche Methode. Für die Untersuchung der Agglutination bei Typhusbazillen schlägt er als Reagens eine Mischung von 5 Tropfen einer einprozentigen neutralen Bleiacetatlösung in 100 cc einprozentiger Kaliumbikarbonatlösung vor, die im Reagierrohr einer 16 bis 18 Stunden alten Typhusbazillenkultur in Bouillon sehr ähnlich sieht. Stets werden Bouillonkulturen von 35^0 und 16 bis 18 Stunden alt benutzt. Eine Bildung eines Schleiers oder spontaner Häufchen verhütet Verf. durch Anwendung neutraler Bouillon, die allerdings weniger Mikroben enthält als eine alkalische. Die Versuche werden stets eingestellt, wenn das Serum eine Stunde auf die Kultur ge-

wirkt hat. Zur Beurteilung des Agglutinationsvermögens stellt man fest, bei welcher maximalen Verdünnung bereits unter dem Mikroskop Bakterienhäufchen von 5 bis 10 Individuen sichtbar sind.

Freund (Halle a. S.).

D. Botanisches.

Fischer, A., Die Zelle der Cyanophyceen (Bot. Zeitg. Abt. 1, Orig. Bd. LXIII, 1905, H. 4 u. 6, p. 51).

Schon früher[1] hat Verf. eine Methode angegeben, die Chromatophoren der Cyanophyceen mit Flußsäure zu isolieren. Nachdem verschiedene Autoren — Kohl, Wager, Zacharias — sich abfällig über das Verfahren ausgesprochen haben, kommt Fischer in der vorliegenden Abhandlung ausführlich auf seine Methode und deren Begründung zurück. — Verf. verwendet 30- bis 40prozentige Flußsäure, am besten ist 45prozentige. Die Algenmassen, die auf ihre Chromatophoren hin untersucht werden sollen, werden auf Fließpapier abgetupft und in den mit Flußsäure gefüllten Platintiegel gebracht, dann wird dieser mit seinem Deckel bedeckt und vorsichtig erwärmt: „Man hält den Bunsenbrenner in der Hand und fährt mit der großen Flamme rhythmisch unter den Tiegel, bis drei bis vier (fünf) kurze Aufstöße der Flüssigkeit hörbar gewesen sind. Sofort nimmt man mit Platindraht oder geeigneter Pinzette das Material heraus und wäscht es in einer großen Schale mit ruhigem Wasser gut aus. Um schöne Färbungen zu erhalten, empfiehlt es sich, mehrere Stunden bis einen Tag lang auszuwaschen. Bei richtiger Behandlung bleiben die Algenfäden, weil die Cellulose nicht zerstört wird, ganz und lassen sich bequem weiter bearbeiten. Das ausgewaschene Material gelangt in eine ein- bis zweiprozentige wässerige Lösung von Lichtgrün, wodurch die Chromatophoren eine fast natürliche Färbung annehmen ... In Lichtgrün darf nicht kürzer als 2 Stunden gefärbt werden, nicht länger als 4 Stunden, damit die Zellwände sich nicht zu stark färben und beim langsamen Entwässern in Alkohol wieder ganz entfärben. Überführung durch steigenden Alkohol, Alkohol-Xylol, Xylol, Balsam. Statt mit Lichtgrün kann auch mit Säurefuchsin oder mit basischen Farben, wie Gentianaviolett, gefärbt werden. Methylgrün mit Amyl-

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XIV, 1897, p. 261, 262.

alkohol gereinigt, spricht nur an, wenn er mit Borax . . . versetzt ist, liefert aber dann Präparate, deren Färbung bei blaugrünen Algen durch größte Natürlichkeit überrascht." Behandelt man die Objekte längere Zeit mit kalter Flußsäure (Spirogyra bis 30 Minuten), so bleiben die Chromatophoren zwar gut erhalten, doch das Plasma verschwindet nicht völlig. — Der Schutz gegen die Flußsäure, den das plasmatische Stroma der Chromatophoren durch den Chlorophyll-Farbstoff erfährt, ist nach Verf. dadurch zu erklären, daß das Chlorophyll eine durch Flußsäure nicht lösliche Verbindung ist, die durch das Erhitzen noch besonders gleichmäßig über den Chromatophoren verteilt wird: der Schmelzpunkt von Hoppe-Seylers Chlorophyllan liegt bei 110°, Flußsäure von 35 Prozent Fl H siedet bei 120°. So schützt das Pigment die Chromatophoren vor der Ätzung, wie ein Wachsüberzug das Glas. — Verf. erprobte seine Methode nicht nur an Cyanophyceen und Conjugaten, sondern auch an den Chromatophoren von Diatomeen und Moosblättern.

Die Untersuchung des Glykogen in den Zellen der Cyanophyceen führte zur Auffindung einer neuen mikrochemischen Glykogenreaktion („Tannin-Safraninfärbung des Glykogens"), über die Verf. in einer besonderen Arbeit gleichzeitig noch berichtet hat.[1]

Auf die mitosenähnlichen Zustände des Zentralkörpers werfen mikrochemische Reaktionen neues Licht. Vor allem ist wichtig, daß Jodpräparate keine Gelbfärbung der „Pseudomitosen" hervorrufen. Vergleichende Färbungsversuche an Mikrotomschnitten durch Oscillariamaterial und Antheren von Lilium (Fixierung in Alkohol, auch in Pikrinschwefelsäure) zeigten, daß die mitosenähnlichen Figuren der Oscillarien im Gegensatz zu den Chromosomen von Lilium mit Karminlösungen (Essigkarmin, Pikrokarmin, Ammoniakkarmin) nicht gefärbt werden können. Ebenso versagt an ihnen Delafields Hämatoxylin nahezu. Außer den genannten und einigen anderen Farbstoffen bringt Verf. noch zahlreiche weitere Medien zur Anwendung — Kochsalz, Soda, Kupferoxydammoniak, Millons Reagens, Säuren, Ammoniak, Pepsin- und Pankreatinglyzerin, kochendes Wasser u. v. a. (vergl. p. 100 ff.) — und kommt zu dem Schluß, daß die „Pseudomitosen" ebenso wie die Zentralkörper der Cyanophyceen nicht aus Proteïnstoffen bestehen, sondern aus einem Kohlehydrat: „Anabaenin". Außer den bereits angeführten Resultaten der Färbungsversuche waren für diese Schlußfolgerung bestimmend die Unverdaulichkeit

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 421.

der Gebilde in Pepsin und Trypsin im Verein mit den vom Verf. aufgeführten Lösungsreaktionen, die Nichtfällbarkeit der autolytischen Lösungsprodukte mit Fällungsmitteln für Eiweißkörper und die Umwandlung von Pseudomitosen in Glykogen, als dessen Kondensationsprodukt das Anabaenin zu betrachten ist. — Als Fixierungsmittel der Pseudomitosen nennt Verf. Alkohol, Jodalkohol, wässrige und alkoholische Sublimatlösung, Pikrinsäure, Pikrinschwefelsäure, Formaldehyd, Flemmingsche und Hermannsche Lösung. „Es bedarf nicht einmal der Fixierung, schon einfaches Auftrocknen der unverriebenen oder verriebenen Fäden konserviert die Pseudomitosen vollständig. Da sie aus einem in Wasser unlöslichen Kohlehydrat bestehen, so ist die ‚schwierige' Aufgabe ihrer Fixierung [Hegler] keine andere als die, Stärkekörner oder Zellmembranen zu fixieren. Auch die Färbung bietet keine Schwierigkeiten, gut ist Methylenblau bei rechter Differenzierung in Alkohol. Viel besser ist Heidenhains Eisenhämatoxylin."

Die physikalischen Eigentümlichkeiten der Anabaeninkörper werden dadurch bedeutungsvoll, daß diese zwischen gekreuzten Nikols aufleuchten: die sog. Gasvakuolen sind nichts anderes „als das Interferenzbild der aus anisotropem Anabaenin bestehenden Pseudomitosen, deren knäuelig verschlungene Massen in komplizierter Weise auf das durchgehende Licht einwirken. Neben völligen Auslöschungen erscheinen auch rote Interferenzfarben, und alles das mischt sich zu den sonderbaren Bildern, die als Gasvakuolen gedeutet worden sind." Die von Klebahn und Molisch in den vielumstrittenen Gebilden beobachteten Erscheinungen werden von diesem Gesichtspunkte aus vom Verf. überzeugend erklärt: so erklärt sich das Schwinden der „Gasvakuolen" nach kräftigem Drücken daraus, daß der Druck die Anisotropie der Pseudomitosen zerstört; daß geringe Mengen von Äther etc. die „Gasvakuolen" zum Schwinden bringen, beruht vermutlich darauf, daß nach der Tötung der Zellen durch Äther etc. die autolytische Zersetzung der Anabaeninkörper beginnt, die schon nach wenigen Minuten weit genug vorgeschritten ist, um das Zustandekommen eines Interferenzbildes auszuschließen. — Angaben von Klebahn und Molisch über die „Fixierung" der Gasvakuolen durch einprozentige Osmiumsäure werden widerlegt.

Schließlich sei noch auf die Kritik der Kohlschen Methoden[1] verwiesen, die Verf. besonders bei Besprechung der Chromatophoren und der Pseudomitosen gibt. *Küster (Halle a. S.).*

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XX, 1903, p. 240.

Brand, F., Über die sogenannten Gasvakuolen und die differenten Spitzenzellen der Cyanophyceen, sowie über Schnellfärbung (Hedwigia Bd. XLV, 1905, p. 1).

Im letzten Abschnitt seiner Arbeit kommt Verf. auf die schon früher empfohlene „Schnellfärbung“ zurück,[1] d. h. zu seiner Methode, lebendes Material durch kurz dauernde Behandlung mit konzentrierten Farbstofflösungen (Eosin, Kongorot, Methylenblau, Methylviolett) zu färben und dabei pathologisch verändertes Material oder tote Anteile an ihrer intensiven Farbstoffspeicherung erkennen zu können. Dieselbe Methode wird auch gestatten, kleine, schlecht auffindbare Formen bei der Durchmusterung irgendwelcher Algengemische leicht nachweisbar zu machen. *Küster* (*Halle a. S.*).

Fischer, H., Über die kolloïdale Natur der Stärkekörner und ihr Verhalten gegen Farbstoffe. Ein Beitrag zur Theorie der Färbung (Beih. z. Botan. Zentrabl. Bd. XVIII, 1905, Abt. 1, p. 409).

Farbstofflösungen gegenüber verhalten sich Stärkekörner (Kartoffelstärke) verschieden: manche Farbstoffe dringen überhaupt nicht oder erst nach wochenlanger Einwirkung in die Stärkekörner ein (Karmin, Hessisch Purpur, Diamin-Echtrot, Kongorot, Anilinblau, Cyanin, Benzoschwarzblau, wasserlösliches Nigrosin), andere färben langsam, aber nicht sehr intensiv, so daß auch nach Tagen die Stärkekörner kaum stärker gefärbt sind als die umgebende Flüssigkeit (Fuchsin S, Korallin, Eosin, Croceïn, Tropaeolin 00 und 000, Pikrinsäure, Methylblau, Methylenblau, Indigkarmin, Hämatoxylin, Bismarckbraun), noch andere Farbstoffe werden von den Stärkekörnern sehr schnell und sehr reichlich aufgenommen (Fuchsin, Neutralrot, Safranin, Chrysoïdin, Malachitgrün, Methylgrün, Jodgrün, Brillantgrün, Nilblau, Gentianaviolett, Thionin, spritlösliches Indulin). Unter den Farbstoffen der letzten Gruppe verdient das spritlösliche besondere Beachtung, weil es der einzige wasserunlösliche Farbstoff ist, der von den Stärkekörnern intensiv gespeichert wird. — Verf. schließt an die Mitteilung seiner experimentellen Resultate ausführliche Erwägungen über die kolloïdale Natur der Stärkekörner und den Vorgang der Färbung, kritisiert die Micellentheorie und die Versuche, die Färbungserscheinungen auf Adsorption zurückzuführen.

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XX, 1903, p. 244.

Nach des Verf. Ansicht handelt es sich bei der Färbung der Stärkekörner um Lösungsvorgänge und um chemische Reaktionen: „Der Farbstoff wird von dem zu färbenden Kolloïd in Lösung aufgenommen oder nicht; je nach der chemischen Natur beider kann in den Fällen der ersteren Art dann auch eine chemische Verbindung eintreten.“

Küster (Halle a. S.).

Harz, C. O., Amylum, Amylodextrin und Erythrodextrin in ihrem Verhalten gegen Chromsäure (Beih. z. Botan. Zentralbl. Bd. XIX, 1905, Abt. 1, p. 45).

Durch Behandlung mit Chromsäure (einen bis 20 Prozent) und Chromschwefelsäure verlieren die Stärkekörner nicht nur die Eigentümlichkeit mit Jod sich blau zu färben, sondern auch die, in kochendem Wasser zu verkleistern. Über die Färbungserscheinungen, die sich gelegentlich bei vorzeitig unterbrochener Chromsäurewirkung an den Stärkekörnern wahrnehmen ließen, vergleiche im einzelnen das Original.

Küster (Halle a. S.).

Molisch, H., Über amorphes und kristallisiertes Anthokyan (Botan. Zeitg. Bd. LXIII, 1905, Abt. 1, H. 7, 8, p. 145).

Verf. macht mit einigen neuen Fällen, die durch Vorkommen von amorphem oder kristallisiertem Anthokyan gekennzeichnet werden, bekannt. Auch in weitverbreiteten, oft untersuchten Pflanzen konnte Verf. mikroskopische Anthokyankristalle nachweisen, z. B. in den Blättern des Rotkrautes (Brassica oleracea capitata), wofern das Material vor der Untersuchung in niedriger Temperatur sich befunden hat. — Besonders verwiesen sei auf die Angaben über „die Kristallisation des Anthokyans außerhalb der Zelle“. Bei den Blumenblättern von Pellargonium zonale (Scharlachpelargonium) beispielsweise gelingt die Erzeugung mikroskopischer Anthokyankristalle dann, wenn man unter dem Deckglas den roten Zellsaft aus einem zerquetschten Blumenblatt austreten und langsam eindünsten läßt. Noch vorteilhafter ist es, sich dabei der reinen Essigsäure zu bedienen: diese tötet die Zellen, nimmt den Farbstoff auf und „läßt ihn beim Verdampfen namentlich unter dem Rande des Deckglases in Form von mehr minder feinen Nädelchen, Pinseln, Doppelpinseln, Garben, Nerven, Drüsen und Sphärokristallen von tief karminroter Farbe ausfallen“.

Küster (Halle a. S.).

Strasburger, E., Typische und allotypische Kernteilung. Ergebnisse und Erörterungen (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XVII, 1905, p. 1).

Für das Studium von Kernstrukturen ist Färbung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain zu bevorzugen, besonders wenn die Objekte mit Chromosmiumessigsäure fixiert worden sind. Die aufgeklebten Paraffinschnitte läßt Verf. $1^1/_2$ Stunde im Wärmeschrank bei 52° C., dann gelangen sie noch warm in Xylol zur Beseitigung des Paraffins, dann in Alkohol und Wasser. Es folgt einstündige Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd, dessen Einwirkung zu kontrollieren und so lange fortzusetzen ist, bis die Schwärzung der Schnitte beseitigt ist. Hiernach werden die Schnitte wieder ausgewaschen und kommen auf etwa eine Stunde in 4prozentige Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydammon nach Heidenhain. Dann wird einige Minuten in Wasser gespült und etwa eine Stunde lang mit Hämatoxylinlösung (Grübler & Co.) gefärbt. Dann werden die Schnitte abermals mit Wasser ausgewaschen und kommen wiederum in die Eisenammonlösung, in der sie bleiben, bis der gewünschte Grad von Differenzierung erreicht ist; schließlich Wasser, 90prozentigen Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam.

Küster (*Halle a. S.*).

Overton, J. B., Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII, 1905, p. 121).

Verf. fixierte mit Flemmings Chromosmiumessigsäure, mit einprozentiger Chromessigsäure und Carnoys Alkoholeisessig. Zur Färbung dienten die üblichen Methoden nach Flemming und Heidenhain. Die Struktur des ruhenden Kerns und des Synapsisstadiums wird durch Behandlung mit Eisenhämatoxylin hervorragend klar. — Läßt sich das Synapsisstadium schlecht färben, so werden die Präparate zunächst mit Eisenhämatoxylin behandelt, dann entfärbt, bis der Synapsisknäuel hell erscheint und dann mit Gentianaviolett gegengefärbt. *Küster* (*Halle a. S.*).

Miyake, K., Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII, 1905, p. 83).

Bei Untersuchung des Knäuelstadiums, besonders der Segmentierung des Knäuels, sind Schnitte von üblicher Dicke zu dünn, so

daß solche von 12 bis 15 μ und mehr hergestellt wurden. — Verf. färbte mit Flemmings Dreifarbengemisch und Heidenhains Eisenalaunhämatoxylin. *Küster (Halle a. S.).*

Allen, Ch. E., Nuclear division in the pollen mothercells of Lilium canadense (Ann. of Bot. vol. XIX, 1905, p. 198).

Es kamen die üblichen Methoden zur Anwendung. Zu Fixierungen empfiehlt Verf. besonders Flemmings stärkere Mischung und Mottiers Rezept[1]. *Küster (Halle a. S.).*

Leake, H. M., The localization of the indigo-producing substance in indigo-yielding plants (Ann. of Bot. vol. XIX, 1905, p. 297).

Bei der Untersuchung verschiedener Indigopflanzen verfuhr Verf. in der Weise, daß er kleine Stücke des Materials in folgender Lösung fixierte:

Eisessig	2	cc
Konz. Schwefelsäure	1	„
Ammoniumpersulfat	0·5	g
Wasser	100	cc.

Gewebstücke mit kleinen Intercellularräumen müssen entsprechend länger in der Fixierungsflüssigkeit verbleiben, da sie nur langsam von ihr durchdrungen werden: man richte die Größe der Gewebsstücke so ein, daß nach 4 bis 6 Stunden, allerhöchstens nach 12 Stunden eine völlige Durchdringung der Objekte erreicht ist. Nach der Fixierung werden sie in täglich gewechseltem 50prozentigem Alkohol 3—4 Tage lang gewaschen. — Die Dicke der Schnitte ist in Einklang mit der Zellengröße der Objekte zu bringen; bei Indigofera sind 4—5 μ erforderlich, bei Polygonum tinctorium 8 μ, bei Isatis, Strobilanthes, Phajus und Calanthe 10—12 μ.

Die vom Paraffin befreiten, mit Alkohol schnell gespülten Schnitte kommen in Delafields Hämatoxylin (50 cc, hierzu 300 cc Wasser), in dem sie mindestens 12 Stunden verbleiben, hiernach in Salzsäurealkohol (1 Prozent NCl in 50prozentigen Alkohol). Erscheinen die Schnitte dann für das unbewaffnete Auge farblos, so werden sie auf mindestens eine Stunde in eine einprozentige Lösung

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XV, 1898, p. 269.

des GRÜBLERschen wasserlöslichen Eosins gebracht. Dann Entwässerung in absolutem Alkohol; Xylol, Kanadabalsam. —

Die nach der geschilderten Methode behandelten Schnitte zeigen sehr deutlich den Indigogehalt der Zellen. *Küster* (*Halle a. S.*).

York, Harlan H., The Agar-Agar and Paraffin Method for imbedding Plant Tissues (The Ohio Naturalist vol. V, p. 344—345. May 1905.

Man bereite zwei Lösungen von Agar-Agar mit folgender Zusammensetzung:

1) Agar-Agar 2 Teile auf Wasser 100 Teile.
2) Agar-Agar 5 „ „ „ 100 „

Zu jeder Lösung setze man nach dem Filtrieren für 9 Volumteile einen Volumteil Formalin zu. Wenn das zu schneidende Material trocken ist, läßt man es in heißem (70° C.) Wasser eine Stunde lang, und dann, wenn es kieselhaltig ist, 12 Stunden in einer 10prozentigen Flußsäurelösung liegen. Man bringe es dann in die 2prozentige Agarlösung bei einer Temperatur von 70°. Wenn das Material frisch und lebendig ist, bringe man es direkt in den Agar. Nach zwei Stunden werden die Objekte in die 5prozentige Lösung übertragen, in dem sie noch eine Stunde liegen bleiben. Man bestreiche ein kleines Stückchen Holz mit dem 5prozentigen Agar, lege ein Stück des Untersuchungsobjektes darauf und bedecke mit Agar. Nach dem Abkühlen wird der feste Agar und das eingeschlossene Objekt vom Holz losgemacht und in 70prozentigen Alkohol eingetaucht. Es wird jetzt entwässert und in Paraffin eingebettet und in gewöhnlicher Weise geschnitten. Zum Kleben auf dem Objektträger ist nichts nötig. Es wird mit DELAFIELDschem Hämatoxylin oder Safranin-Gentianaviolett oder einem anderem Färbmittel gefärbt, wobei der Agar gefärbt (DELAFIELDsches Hämatoxylin) oder nicht gefärbt wird.

Ernst A. Bessey (*Washington*).

Shoemaker, D. N., On the Development of Hamamelis virginiana (Botanical Gaz. vol. XXXIX, p. 248—266, plates VI and VII, April 1905).

Die angewandte Fixierungslösung wurde folgendermaßen zubereitet: Zu einer gesättigten wässerigen Lösung von Sublimat wurden 5 Teile pro Hundert Eisessig zugesetzt. Diese Flüssigkeit wurde sowohl kalt als heiß verwandt. Als bestes Färbemittel ließ sich das FLEMMINGsche Dreifarbengemisch bezeichnen. Der Autor hat Keimung der Pollen-

körner in einer 16prozentigen Rohrzuckerlösung mit Zusatz von $1^1/_2$ Teilen pro Hundert Gelatine bekommen. Die Pollenschläuche wurden durch Methylgrün-Essigsäure fixiert und gefärbt.

Ernst A. Bessey (Washington).

Shattuck, Charles H., A morphological Study of Ulmus americana (Botanical Gaz. vol. XL, p. 209—223, pl. VII—IX, Sept. 1905).

Beim Fixieren muß man die Samenknospen wegen ihrer zahlreichen Haare in 95prozentigen Alkohol eintauchen, um die Luft zu entfernen, und dann sogleich in die Fixierungsflüssigkeit übertragen. Eine 2prozentige Chromessigsäure-Lösung ergab sich als die beste für alle Stadien, außer den ältesten. Um die Schnitte an den Objektträger anzukleben, benutzte Autor ein Gemisch von 40 Teilen Leim („Le Pages“), 10 Teilen Wasser und 50 Teilen Glyzerin. Das Meyersche Eiweißfixativ hat keine guten Resultate gegeben. Das Leim-Glyzeringemisch klebt die Schnitte fester an das Glas, bleibt länger verwendbar, und wird nicht so leicht durch die Hitze koaguliert.

Für Färbung der Samenknospen zeigte sich Safraningentianaviolett als die beste Kombination. Beim Zusatz von Orange G wurden die Pollenschläuche und männliche Zellen am besten gefärbt.

Ernst A. Bessey (Washington).

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Doelter, C., Die Silikatschmelzen (Sitzber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXIII, 1904, Abt. 1, p. 177—249, 495—511).

Für die mikroskopischen Beobachtungen des Verf. wurde von demselben auf den Objekttisch eines Kristallisationsmikroskopes ein kleines elektrisches Widerstandsöfchen aufgesetzt, welches von Heraeus speziell für diesen Zweck konstruiert und mit Endflächen aus Quarzglas versehen war. Auch die Objektträger bestanden aus Quarzglas. Die Vorrichtung gestattet Temperaturen bis 1400° zu erreichen und ermöglichte dem Verf. seine zahlreichen früheren Untersuchungen über die Schmelzung der Silikatmaterialien und -gesteine wesentlich zu erweitern. Kürzlich hat der Verf. auch in einem zusammenfassenden

Werk (betitelt Physikalisch-chemische Mineralogie, Leipzig 1905) seine Ergebnisse nebst dem mit ihnen zusammenhängenden Arbeitsgebiet dargestellt und die einschlägige Literatur sehr vollständig berücksichtigt. *E. Sommerfeldt (Tübingen).*

Becke, F., Messung des Winkels der optischen Achsen aus der Hyperbelkrümmung (Tschermaks mineral. u. petr. Mitt. Bd. XXIV, 1905, p. 35—44 m. 3 Figg.).

Um den Achsenwinkel zweiachsiger Mineralien, welche im Gesichtsfeld des Mikroskopes nur eine der optischen Achsen zeigen, zu bestimmen, wendet der Verf. folgende Methode an: Unter Benutzung eines Zeichenapparats wird der Ort der einen Achse, ferner der Kreisbogen, welcher der Ebene der optischen Achsen entspricht, und die Isogyre in ihrer Diagonalstellung markiert. Wird für einen Punkt der letzteren der Fresnelsche Satz — welcher den Winkel der von ihm durch die beiden Achsen gelegten Ebenen in Beziehung setzt zu der Schwingungsrichtung — angewandt, so läßt sich der Ort der anderen Achse in diesem Diagramm konstruieren.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Luczizky, W., Über die Dispersion der optischen Achsen bei den rhombischen Pyroxenen (Tschermacks min. u. petr. Mitt. Bd. XXIV, 1905, p. 140—143).

Durch Anwendung der mikrokonoskopischen Methoden Beckes (vgl. d. vor. Ref.) ermittelt der Verf. die Abhängigkeit der optischen Eigenschaften der rhombischen Pyroxene von ihrem Fundort und stellt fest, daß als physikalische Ursache für die auffallenden Änderungen in der Dispersion bei diesen Mineralien die Beimischungen zu betrachten sein dürften, welche aus Aluminium-, Calcium- und Eisenoxyd, z. T. auch aus Manganoxyd bestehen.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Stead, J. E., Micro-Metallography with practical Demonstration (Journ. of the Roy. micr. Soc. 1905, pt. 2, p. 274—283 w. 1 Fig.).

Der Verf. gibt Methoden zur Auswahl geeigneter Proben für die mikroskopische Untersuchung von Metallen an und beschreibt diejenigen Apparate zur Bearbeitung (Schneiden, Schleifen, Polieren) derselben, welche sich nach seinen Erfahrungen bewährten. Auch Angaben über die besten Ätzungsmethoden und über Mikroskoptypen

und Illuminatoren, welche zur Beobachtung undurchsichtiger Objekte im auffallenden Licht geeignet sind, werden beigefügt.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Stead, J. E., Methods for Detecting the more Highly Phosphorised Portions in Iron and Steel (Journ. of the Roy. micr. Soc. 1905, pt. 2, p. 284—289 w. 2 Tfln.).

Zur Unterscheidung der an Phosphor reicheren Arten des Stahles und Eisens benutzt der Verf. zwei Methoden: Die erste beruht auf der Beobachtung der Anlauffarbe, welche die betr. Probe beim Erhitzen in bestimmten Temperaturen annimmt, die andere auf der Erzeugung von Ätzfiguren; und zwar werden als Ätzungsmittel benutzt: Jod in Jodkalium gelöst, Pikrinsäure, Salpetersäure. Die Beschreibung der Ätzungsgebilde wird durch die Wiedergabe von elf Mikrophotographien vervollständigt. *E. Sommerfeldt (Tübingen).*

Seddig, M., Über „Wachstums"-Erscheinungen an Quecksilbertropfen (Physikal. Zeitschr. Bd. VI, 1905, p. 153—154).

Winzige Quecksilbertröpfchen besitzen, wie der Verf. beobachtete, die Tendenz, pilzförmige Wachstumsbildungen anzunehmen, deren Gestalt stark davon abhängt, ob im Sonnenschein oder Schatten das Wachstum stattfindet. Diese Erscheinung ist jedoch nicht der Licht-, sondern der Wärmewirkung der Sonne zuzuschreiben, indem ein Hinüberneigen der Gebilde nach der Seite der stärkeren Verdunstung (also der Lichtseite) wegen der dort stattfindenden Kontraktion erfolgt.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Abel, Rud., Bakteriologisches Taschenbuch, enth. die wichtigsten techn. Vorschriften zur bakteriolog. Laboratoriumsarbeit. 9. Aufl. (VI, 117 pp.) 8°. Würzburg (A. Stuber) 1905. Geb. 2 M.

Böhm, A. A., a. **Davidoff, M.**, Textbook of Histology including Microscopic Technics. Translated by H. A. Cushing. M. Fig. 2. revised and enlarged edition. Philadelphia 1904. 528 pp. 8°. 17·50 M.

Hall, Walker, J., a. **Herxheimer, G.**, Methods of morbid Histology and clinical Pathology. Edinburgh and London (Green a. Sons); XVI a. 290 pp. 8°. 9 Sh.

Merck, E., Prüfung der chemischen Reagentien auf Reinheit. Darmstadt 1905; 281 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 413.)

Möller, J., Mikroskopie der Nahrungs- und Genußmittel aus dem Pflanzenreich. Berlin (Jul. Springer) 1905; XVI u. 599 pp., 599 Figg. 2., gänzl. umgearb. u. unter Mitwirkung A. L. Wintons vermehrte Aufl. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 412.) 18 M.

Scales, F. S., Elementary Microscopy. Handbook for Beginners. W. Fig. London. 192 pp. 8°. 3·20 M.

Schuster, A., Introduction to Theory of Optics. London (E. Arnold) 1904. 356 pp.

Senft, E., Mikroskopische Untersuchung des Wassers mit bezug auf die in Abwässern und Schmutzwässern vorkommenden Mikroorganismen und Verunreinigungen. 180 Figg. im Text und 10 lithogr. Tfln., 196 pp. Wien (Jos. Šafář) 1905. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 412.) 9·60 M.

Zsigmondy, R., Zur Erkenntnis der Kolloïde. Über irreversible Hydrosole und Ultramikroskopie. (VI, 186 pp. m. 6 Figg. u. 4 Tfln.) gr. 8°. Jena (G. Fischer) 1905. 4 M.

2. Mikroskop und mikroskopische Apparate.

a. Neue Mikroskope.

Finlayson, D., The ASHE-FINLAYSON „Comparoscope" (Journ. R. Microsc. Soc. 1904, pt. 4, p. 414).

Studnicka, F. K., Über eine neue Konstruktion des Präpariermikroskops (Sitzber. Böhm. Ges. d. Wiss. 1905, 4 pp.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 440).

KORISTKA's Large Model mineralogical Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 492; vgl. KORISTKA's Katalog, No. 12, 1905, p. 31, Fig. 15).

LEITZ' Demonstrations Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 495; vgl. LEITZ' Katalog, No. 41, 1905).

LEITZ' Mechanical Stage (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 497; vgl. LEITZ' Katalog 1905, No. 41).

LEITZ' Mineralogical Stand No. I (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 492; vgl. LEITZ' Katalog 1905, No. 41).

LEITZ' Mineralogical Stand II (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 495; vgl. LEITZ' Katalog 1905, No. 41).

REICHERT's Medium dissecting Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 366; vgl. C. REICHERTS Katalog 1904, No. 25, Fig. 19).

REICHERT's new Microscope for Brain Sections (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 367; vgl. C. REICHERTS Katalog 1904, No. 25, p. 36, Fig. 17 d).

J. E. STEAD's Engineer's metallurgical Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 364; vgl. J. SWIFT and SON's Catalogue 1904, p. 35).

SWIFT's new compound metallurgical Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 366; vgl. J. SWIFT and SON's Catalogue 1904, p. 36).

TAFNER's new Preparation Stand (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 368; vgl. REICHERT's Katalog 1904, No. 25, p. 41, Fig. 20a).

b. Objektive und Okulare.

Chalmers, S. D., Theory of symmetrical optical Objectives (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 501; vgl. Proc. R. Soc. vol. LXXIV, no. 482, p. 267, no. 504, p. 396).

Conrady, A. E., On the chromatic correction of Object-glasses (Monthly Not. R. Astron. Soc. vol. LXIX, 1904, p. 274).

Dowdy, S. E., Attachable Object-finder (Engl. Mech. vol. LXXIX, 1904, p. 410).

H., Construction of aplanatic Combinations of Lenses with or without Achromatism (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 501; vgl. Engl. Mechan. no. 2068, p. 321; no. 2069, p. 340; no. 2072, p. 406; no. 2080, p. 595).

Trozewitsch, S. E., Anfertigung von Objektiven für Teleskope, Mikroskope und photographische Apparate, die optische Technik der Mikroskope und Teleskope [Russisch]. Warschau 1903. 322 pp.

Trozewitsch, S. E., Zur Frage über das aplanatische System (Zeitschr. f. Math. u. Phys. Bd. LI, 1904, p. 100).

Leitz' New Objectives (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 500; vgl. Leitz' Katalog 1905, No. 41).

Leitz' triple Revolver with large Protection Diaphragm (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 507; vgl. Leitz' Katalog 1905, No. 41, p. 110).

New formula Object-glass (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 499; vgl. Leitz' Katalog 1905, No. 41).

Reichert's new erect Image Preparation System for Preparation Microscopes (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 368; vgl. C. Reicherts Katalog 1904, No. 25, p. 40, Fig. 20).

c. Linsen.

Berger, E., Über das bei meiner binokularen Lupe verwendete Linsensystem (Deutsche Mechan.-Zeitg. 1905, p. 155).

Blakesley, T. H., Single-piece lenses (Proc. Phys. Soc. London vol. XVIII, 1903, p. 591).

d. Beleuchtungs- und Heizapparate.

Davis, D. J. A., A method of microscopic observation by means of lateral Illumination (Trans. Chicago Pathol. Soc. vol. VI, 1904, p. 90).

Greil, Beleuchtungsapparate mit Nernstschem Glühlicht (Anat. Anz. Ergänzungsh. Bd. XXV, 1904, p. 178).

Kalähne, A., Über das Woodsche Lichtfilter für ultraviolette Strahlen (Phys. Zeitschr. Bd. V, 1904, p. 415).

Pflüger, A., Die Quecksilberlampe als ultraviolette Lichtquelle (Phys. Zeitschr. Bd. V, 1904, p. 414).

Studnicka, F. K., Über eine neue Anwendung des Abbeschen Kondensors (Sitzber. Böhm. Ges. d. Wiss. 1905, 4 pp.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 432).

Koristka's Illuminator for opaque Objects (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 510; vgl. Leitz' Katalog 1905, No. 41, p. 50).

Leitz' Thermometric Stages (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 507; vgl. Leitz' Katalog 1905, No. 41, p. 85).

Monochromatic Trough (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 507; vgl. R. a. J. Beck's Special Catalogue 1905).

New vertical Illuminator for metallurgical Examinations (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 506; vgl. Knowledge vol. II, 1905, p. 43 und R. a. J. Beck's Special Catalogue 1905).

Pfeiffer's Hot-Air Chamber (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 371; vgl. Reicherts Katalog 1904, No. 25, p. 53, Fig. 26b).

Reichert's new chromatic Condensor (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 371; vgl. Reicherts Katalog 1904, No. 25, p. 13).

J. E. Stead's Illuminator for opaque Objects (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 372; vgl. J. Swift and Son's Catalogue 1904, p. 35).

e. Polarisationsmikroskop.

(**Holmes, E.,**) Polariscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 509; vgl. Engl. Mechan. vol. LXXXI, 1905, p. 383).

Rinne, F., Le Microscope polarisant (Trad. par L. Pervinguière av. préface par A. de Lapparent, Paris 1904, 160 pp.).

f. Zeichenapparate.

Bausch and Lomb's adjustable Drawing Board (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 512; vgl. Bausch a. Lomb's Catalogue 1904, p. 70).

Bausch and Lomb's improved Form of Camera lucida (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 511; vgl. Bausch a. Lomb's Catalogue 1904, p. 68).

Leitz' Drawing Board [simple Form] (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 508; vgl. Leitz' Katalog 1905, No. 41, p. 81).

g. Ultramikroskop.

Meyer, Das Ultramikroskop (Kosmos Bd. I, No. 1).

Siedentopf a. **Zsigmondy,** New microscopic Apparatus for rendering visible ultra-microscopic Particles in Glasses and Liquids (Reichert's special circular).

3. Mikrophotographie und Projektion.

Köhler, A., Eine mikroskopische Einrichtung für ultraviolettes Licht $\lambda = 275\ \mu\mu$) und damit angestellte Untersuchungen organischer Gewebe (Verh. 76. Vers. D. Naturf. u. Ärzte, Breslau 1904, Bd. II [1], 1905, p. 29—33).

(**Köhler, A.**, a. **Rohr, M. v.**,) Photomicrography with ultra-violet Light (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 513; vgl. Zeitschr. f. Instrumentenk. Bd. XXIV, 1904, p. 341).

König, E., Über Badeplatten (Photogr. Korrespond. Bd. XLII, 1905, p. 399—406; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 413).

Langlet, E., Méthodes employées au Laboratoire d'Essais du Conservatoire national des Arts et Métiers pour l'Étude des Objectifs photographiques (Soc. Franç. de Phys. no. 233, 1905, p. 2—3).

Leitz' Universal Projection Apparatus (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 504; vgl. Leitz' Katalog 1905, No. 41, u. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 305).

Vorrichtung zum Wechseln der Bilder im Projektionsapparat (Deutsche Mechan.-Zeitg. 1905, p. 127; vgl. Bayr. Ind.- u. Gew.-Bl. Bd. XXXVII, 1905, p. 114).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Barnabò, Valentino. Liquidi fissatori alcalini: Contributo alla tecnica istologica (Boll. Soc. Zool. Ital., Anno XIV [Ser. 2, vol. VI], fasc. 1/3, p. 55—73).

Bethe, Albr., Die Einwirkung von Säuren und Alkalien auf die Färbung und Färbbarkeit tierischer Gewebe (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. VI, 1905, H. 9, 10, p. 399—425).

(**Breuil, P.**,) Examining Caoutchouc by the Aid of the Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 389; vgl. C. R. Acad. Sc. Paris t. CXL, 1905, p. 1142).

Courmont, J., et **André, Ch.**, Technique histologique permettant de déceler sur les coupes les substances du groupe de la Purine, notamment l'acide urique (C. R. Soc. Biol. Paris t. LVII, 1904, p. 131—132; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 417).

Curreri, Giuseppe, Metodi nuovi e semplici per fissare e ritrovare dei punti interessanti di preparati microscopici (Atti Accad. Peloritana vol. XIX, fasc. 2, 8 pp. 8°).

(**Curtis** a. **Lemoult, P.**,) Affinity of artificial colouring Matters for connective Tissue (Journ. R. Microsc. Soc. 1905. pt. 4, p. 530; vgl. C. R. Acad. Sc. Paris t. CXL, 1905, p. 1606).

Delamare, Gabriel, Mélange tetrachrome [coloration élective et simultanée des noyaux cellulaires, des fibres conjonctives, élastiques et musculaires] (C. R. Soc. Biol. t. LVIII, no. 18, p. 828—829).

Dixon, W. E., a. Inchley, O., The Cilioscribe, an instrument for recording the Activity of Cilia, 4 figg. (Journ. of Phys. vol. XXXII, no. 5, 6, p. 395—400).

Dubreuil, G., Le Picro-Bleu, note sur l'emploi de ce réactif pour la coloration spécifique des fibrilles conjonctives. Application à l'étude du tissu réticulé du ganglion lymphatique (C. R. Assoc. Anat. VI. Sess. Toulouse 1904. Bibliogr. anat. Suppl. 1904, p. 62—66; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 420).

Fick, Joh., Aufklebemethode und Schälchenmethode bei der Färbung von Paraffinschnitten (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 15, p. 596).

Fischer, A., Eine neue Glykogenfärbung (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 13, 14, p. 399—400; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 421).

Forster, W. H. C., A simple technique for the enumeration of organisms in any fluid (Lancet vol. I, 1905, no. 24, p. 1641—1642).

Fuld, E., Über einen neuen Indikator (München. med. Wochenschr. 1905, No. 25, p. 1197).

Halphen, G., et Riche, A., Contribution à l'étude des teintures histologiques (Compt. rend. Acad. Sc. t. CXL, no. 21, p. 1408—1410).

(**Halphen, G., a. Riche, A.**,) Theory of histological Staining (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 530; vgl. C. R. Acad. Sc. Paris t. CXL, 1905, p. 1408).

(**Harman, N. B.**,) Accessory for freezing Microtomes (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 528; vgl. Lancet vol. I, 1905, p. 1505).

(**Joseph, F. H.**,) Fugent: a new Stain (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 384; vgl. Brit. Med. Journ. vol. I, 1905, p. 136).

Julius, W. H., Bemerkungen über erschütterungsfreie Aufstellung (Ann. d. Phys. Bd. XVIII [4], 1905, p. 206—209).

Lemanissier, J., L'étude des corps ultramicroscopiques (Thèse de Paris 1905, 8°).

(**Mair, W.**,) Method for freeing Paraffin from Cedar-wood Oil (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 533; vgl. Brit. Med. Journ. vol. I, 1905, p. 1381).

Medea, E., L'applicazione del nuovo metodo di Ramón y Cajal allo studio del sistema nervoso periferico (Communicazione alla Soc. med.-chir. di Pavia, 14. gennaio 1905).

(**Merlin, A. A. C. E.**,) Modification of the Rousselet Live-box (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 532; vgl. Journ. Quekett Microsc. Club vol. IX, 1905, p. 169).

Michaelis, L., Ultramikroskopische Untersuchungen (Virchows Arch. Bd. CLXXIX, 1905, H. 2, p. 195—208 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 413).

(**Miller, E. F.**,) Multiplex Slide-holding Device for staining Sections (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 530; vgl. John Hopkins Hosp. Bull. vol. XVI, 1905, p. 132).

(**Osterhout, W. J. V.,**) Simple freezing Microtome (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 528; vgl. Univ. California Publ. Bot. vol. II, 1904, p. 73 u. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 527).

(**Osterhout, W. J. V.,**) Fixation in Vacuo (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 527; vgl. Univ. California Publ. Bot. vol. II, 1904, p. 78 u. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 527).

(**Osterhout, W. J. V.,**) Rapid Method of Mounting in aqueous Media (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 532; vgl. Univ. California Publ. Bot. vol. II, 1904, p. 83 u. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 527).

(**Osterhout, W. J. V.,**) Simple Slide-holder (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 532; vgl. Univ. California Publ. Bot. vol. II, 1904, p. 81 u. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 527).

(**Powell, J. G. R.,**) Copal as a mounting Medium (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 387; vgl. Engl. Mechan. vol. LXXXI, 1905, p. 133).

Regaud, Cl., et **Dubreuil, G.,** Sur un nouveau procédé d'argentation des épithéliums au moyen du protargol (C. R. de l'Assoc. des Anat. V. Sess. Liége 1903, Bibliogr. anat. Suppl. 1903, p. 121—123; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 418).

Ribadeau-Dumas, Application de la méthode à l'argent de Ramón y Cajal à l'étude de la rate (Bull. et Mém. de la Soc. anat. de Paris, Année LXXX, Sér. 6, T. 7, No. 4, p. 281—222).

Sereni, S., Sull'uso di formalina come mezzo di conservazione dei sedimenti delle urine, dei liquidi ascitici, pleurici ecc. (Boll. d. Soc. Lancisiana degli Ospedali di Roma Anno XXV, 1905, fasc. 3, 11 p. 2 figg.).

Sternberg, K., Eine Schnittfärbung nach der Romanowskischen Methode (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 8, p. 293—294; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 416).

Wederhake, Zur mikroskopischen Schnelldiagnose (Zentralbl. f. Gynäkol. Jahrg. XXIX, No. 25, p. 785—790).

Wolfrum, Celloïdintrockenmethode (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. XLIII, Bd. II, p. 61—64).

Reichert's Medium Microtome (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 382; vgl. Reicherts Katalog 1904, No. 25, p. 58).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Bösenberg, H., Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese bei den Arachnoiden (Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontogen. Bd. XXI, 1905, p. 515—570 m. 3 Tfln; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 426).

Gemelli, Fra A., Su di una fine particolarità di struttura delle cellule nervose dei vermi. Nota preventiva. 1 Tav. (Riv. di Fisica, Matem. e Scienze nat. Pavia, Anno VI, no. 66, p. 518—532).

Giemsa, G., Coloration des protozoaires (Ann. de l'Inst. PASTEUR, Année XIX, 1905, no. 5, p. 346—352).

Heinemann, Ph., Untersuchungen über die Entwicklung des Mesoderms und den Bau des Ruderschwanzes bei den Ascidienlarven (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX, 1905, p. 1—72 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 424).

Laß, M., Beiträge zur Kenntnis des histologisch-anatomischen Baues des weiblichen Hundeflohes [Pulex canis DUGÈS s. Pulex serraticeps TASCHENBERG] (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX, 1905, p. 73—131 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 425).

Lewis, J., a. Williams, H. U., The results of attempt to cultivate trypanosomes from frogs (American med. t. IX, 1905, p. 491).

Montgomery, Th. H., The Spermatogenesis of Syrbula and Lycosa, with general considerations upon Chromosome Reduction and the Heterochromosomes. 2 Tfln. (Proc. of the Acad. of Nat. Sc. of Philadelphia vol. LXVII, pt. 1, p. 162—205).

Schröder, O., Beiträge zur Kenntnis der Bauchsinnesorgane [Bauchaugen] von Eunice virides Gray sp. [PALOLO] (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX, 1905, p. 132—149 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 424).

Schuberg, A., Über Cilien und Trichocysten einiger Infusorien. 2 Tfln. (Arch. f. Protistenk. Bd. VI, H. 1, p. 61—110).

Thon, K., Über den feineren Bau von Didinium nasutum O. F. M. 2 Tfln. u. 3 Figg. (Arch. f. Protistenk. Bd. V, H. 3, p. 281—321).

b. Wirbeltiere.

Abrikossoff, A. J., Über die ersten anatomischen Veränderungen bei Lungenphthise (VIRCHOWS Arch. Bd. CLXXVIII, 1904, H. 2, p. 173—263 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 439).

Asahi, K., Beitrag zur Untersuchung auf Hyphomyceten (Prager med. Wochenschr. 1905, No. 12).

Davis, D. J., Ultramicroscop observations on cerebrospinal fluid and blood. 1 fig. (Trans. of the Chicago Pathol. Soc. vol. VI, no. 7, p. 225—229).

Donaldson, H. H., a. Hoke, G. W., On the Areas of the Axis Cilinder and medullary Sheath as seen in cross Sections of the Spinal Nerves of Vertebrates (Journ. Compar. Neurol. and Psychol. vol. XV, 1905, no. 1, p. 1—16 w. 1 fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 446).

Erdély, A., Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehung der Lymphe. Fünfte Mitteilung. Über die Beziehung zwischen Bau und Funktion des lymphatischen Apparates des Darmes (Zeitschr. f.

Biol. LXVI, 1904, H. 2, p. 119—152 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr Bd. XXII, 1905, p. 427).

Ferrata, Ad., Sul nucleolo della cellula nervosa (Monit. Zool. Ital., Anno XVI, no. 6, p. 170—171).

Fischel, R., Zur Technik der KROMAYERschen Epithelfasern (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 15, p. 593).

Glas, E., Zur Frage der Sarkolyse. [Erste Mitteilung über quergestreifte Muskeln und deren Zerfallsprodukte im follikulären Gewebe der Tonsille] (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 6, p. 155—171 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 427).

Hansen, F. C. C., Untersuchungen über die Gruppe der Bindesubstanzen. I. Der Hyalinknorpel (Anat. Hefte, H. 83 [Bd. XXVII, H. 3] 1905, p. 537—820 m. 5 Figg. i. Text u. 10 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 433).

Homburger, A., Über die Gründe der mangelhaften Haltbarkeit und die Wiederherstellung abgeblaßter WEIGERTscher Neurogliapräparate (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 15, p. 600).

Illing, G., Vergleichende histologische Untersuchungen über die Leber der Haussäugetiere (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 7, 8, p. 177—193 m. 1 Fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 436).

Karakacheff, K. Iv., Über das Verhalten der LAGERHANSschen Inseln des Pankreas bei Diabetes mellitus (Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXII, 1904, H. 1, 2, p. 60—89 m. 1 Tfl. u. 3 Figg. i. Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 435).

Lenzmann, R., Über eine vereinfachte Methode der Färbung von Bluttrockenpräparaten (Rheinisch-Westfälische Ges. f. inn. Med. u. Nervenheilkunde. IV. Vers. 6. Nov. 1904 zu Duisburg; Ref. in München. med. Wochenschr. Jahrg. LI, 1904, No. 50, p. 2250—2251; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 431).

Leyen, E. von der, Über die Schleimzone des menschlichen Magen- und Darmepithels vor und nach der Geburt (VIRCHOWS Arch. Bd. CLXXX, 1905, No. 1, p. 99—107; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 435).

London, E. S., Zur Lehre von dem feineren Bau des Nervensystems (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 111—115 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 447)

Mahaim, A., Les terminaisons cylindraxiles péricellulaires de HELD (Bull. de l'Acad. R. de Méd. de Belgique, sér. 4, t. XIX, no. 4, 5, p. 256—268

Maresch, R., Über Gitterfasern der Leber und die Verwendbarkeit der Methode BIELSCHOWSKYS zur Darstellung feinster Bindegewebsfibrillen (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 16, 17, p. 641).

Meves, F., Über die Wirkung gefärbter Jodsäure auf die roten Blutkörperchen der Amphibien. Vorläufige Mitteilung (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 4, 5, p. 97—103 m. 4 Abb.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 430).

Michotte, A., Contribution à l'étude de l'histologie fine de la cellule nerveuse (Le Névraxe t. VI, fasc. 3).

Nicolle, C., et Comte, C., Sur la signification des corps en anneau décrits par M. SERGENT dans le sang des paludéens (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LVIII, no. 16, p. 760—762).

Pascucci, O., Die Zusammensetzung des Blutscheibenstromas und die Hämolyse. 1. Mitteil.: Die Zusammensetzung des Stromas. 2. Mitteil.: Die Wirkung von Blutgiften auf Membranen aus Lecithin und Cholesterin (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. VI, H. 11, 12, p. 543—566).

Pensa, A., Osservazioni sulla distribuzione dei vasi sanguigni e dei nervi nel pancreas (Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXII, 1905, H. 1—3, p. 90—126 m. 6 Tfln. u. 5 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 438).

Pighini, G., Sur l'origine et la formation des cellules nerveuses chez les embryons des Sélaciens (Bibliogr. anat. t. XIV, 1905, fasc. 1, p. 94—105 av. 3 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 441).

Pighini, G., Sulla struttura dei globuli rossi [Anfibi, Uccelli, Mammiferi compreso l'uomo]. 1 tav. (Arch. Sc. med. vol. XXIX, 1905, fasc. 1, 2, p. 49—66).

Ramón y Cajal, S., Neuroglia y Neurofibrillas del Lumbricus (Trab. Labor. Invest. Biol. Madrid t. III, 1904, fasc. 4, p. 277; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 444).

Ramón y Cajal, S., y Garcia, D. D., Las lesiones del reticulo de las células nerviosas en la rabia (Trab. Labor. Invest. Biol. Madrid t. III, 1904, fasc. 4, p. 213—266 c. 29 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 443).

Ruffini, A., Di una nuova guaina [guaina sussidiaria] nel tratto terminale delle fibre nervose di senso nell'uomo (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX, 1905, p. 150—170 c. 2 tavv.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 447).

Schmidt, J. E., Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie einiger Zellarten der Schleimhaut des menschlichen Darmkanales (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 12—40 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 439).

Schridde, H., Die Darstellung der Leukocytenkörnelungen im Gewebe (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, 1905, No. 19, p. 769).

Schwarz, G., Studien über im großen Netz des Kaninchens vorkommende Zellformen (VIRCHOWS Arch. Bd. CLXXIX, 1905, H. 2, p. 209—265 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 434).

Srdinko, O. V., Eine sichere Methode zur Differenzierung der Rinden- und Markelemente der Nebenniere, besonders bei Säugetieren und Menschen (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 6, p. 172—174 m. 1 Fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 437).

Tartuferi, F., Su di una terza nuova impregnazione metallica dei tessuti e specialmente della cornea (Ann. Ottalmol. Anno XXXIV, fasc. 1, 2, p. 74—78, u. Bull. Sc. med. Anno LXXV, ser. 8, vol. IV, fasc. 12, p. 589—592).

Uhlenhuth, P., Über den Stand der forensischen Blutuntersuchung (Med. Klinik, Jahrg. I, 1905, No. 22, p. 539—543).

Valedinsky, I. A., Zur Frage über die Nervenknoten im Herzventrikel einiger Säugetiere. Vorläufige Mitteilung (Anat. Hefte, H. 81 [Bd. XXVII, H. 1], 1904, p. 287—293 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 442).

Varela de la Iglesia, R., Contribución al estudio de la médula espinal (102 pp., c. 22 laminas en fototipia. Madrid 1904, Ricardo Fé [Der Text ist spanisch u. französisch]; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 445).

Wederhake, Zur Untersuchung menschlicher Samenflecke für gerichtliche Zwecke (Deutsche med. Wochenschr. 1902, No. 25).

Weidenreich, F., Studien über das Blut und die blutbildenden und -zerstörenden Organe. 3. Über den Bau der Amphibienerythrocyten. 1 Tfl. u. 2 Figg. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, H. 2, p. 270—298).

Wuttig, H., Experimentelle Untersuchungen über Fettaufnahme und Fettablagerung (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XXXVII, 1905, H. 2, p. 378—410 m. 1 Tfl. u. 3 Figg. i. Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 436).

Zietzschmann, O., Über die acidophilen Leukocyten (Körnerzellen) des Pferdes (Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXII, 1905, H. 1—3, p. 1—90 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 429).

c. Bakterien.

Bandi, I., u. Simonelli, Fr., Über die Anwesenheit der Spirochaete pallida in sekundär-syphilitischen Manifestationen und über die zu ihrem Nachweis angewendeten Färbungsmethoden (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. LII, 1905, No. 35, p. 1668—1669).

Bell, J. F., A simple method of filtering agar (Proc. of the New York pathol. Soc. t. IV, 1905, no. 8, 1 fig.).

Boit, H., Einfache und sichere Identifizierung des Typhusbacillus. 48 pp. Jena (G. Fischer) 1905. 1 M.

Bolduan, Ch., The addition of marble or other calcium compounds to nutrient broth; a reliable and convenient method for growing the pneumococcus (Proc. of the New York pathol. Soc. vol. V, 1905, F. 3).

Bordet, J., Une méthode de culture des microbes anaérobies (Ann. de l'Inst. Pasteur t. XVIII, 1904, p. 332; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 454).

Buerger, L., Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen. 3 Tfln. (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXIX, H. 2, p. 216—224).

Bulnheim, G., Über neue Sterilisierungsgefäße, die sogenannten Dahlener Doppeltöpfe (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XI, 1905, H. 4, p. 85—87, 3 Figg.).

Cache, A., Über die Frage der bakteriologischen Technik (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1905, No. 1, 3, p. 47—52, 4 Figg.).

Cazottes, H., Étude sur la coloration et la décoloration des bacilles acido-résistants. Lyon 1904. 8⁰. 68 pp.

(**Dibdin, W. J.**,) Flagella of Bacillus typhosus (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 374).

Dudgeon, L. S., The staining reactions of the Spirochaete found in syphilitic lesions (Lancet vol. II, 1905, no. 8, p. 522—523).

Dworetzky, A., Erfahrungen mit der SPENGLERschen Formalinmethode zur Reinzüchtung von Tuberkelbazillen aus Bakteriengemischen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 4, p. 626; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 450).

(**Fowler, E. S. G.**,) Method for preserving Bacterial Cultures for Class Purposes (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 533; vgl Brit. Med. Journ. vol. I, 1905, p. 1412).

Galli-Valerio, B., Notes de parasitologie et de technique parasitologique (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXIX, 1905, H. 3, p. 230—247, 3 Figg.).

Giemsa, G., Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der ROMANOWSKY-NOCHTschen-Chromatinfärbung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 2, p. 308; vgl. diese Zeitschr. XXII, 1905, p. 449).

Giemsa, G., Bemerkungen zur Färbung der Spirochaeta pallida [SCHAUDINN] (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXI, 1905, No. 26, p. 1026—1027).

Gravagna, Sulla coltura artificiale del bacillo di HANSEN fuori dell'organismo umano. Ricerche batteriologiche (Riforma med. Anno XXI, 1905, no. 32, p. 876).

Gwyn, N. B., a. **Harris, N. Mac L.**, A comparison between the results of blood cultures taken during life and after death (Journ. of infect. dis. vol. II, 1905, no. 3, p. 514—528).

Hastings, T. W., A method for preparing a permanent NOCHT's stain [NOCHT-JENNER stain] (Journ. of exper. med. vol. VII, 1905, no. 3, p. 265—279, 2 Tfln.).

Herxheimer, K., u. **Hübner, H.**, Über Darstellungsweise und Befund der bei Lues vorkommenden Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXI, 1905, No. 26, p. 1023—1026, 1 Fig.).

Kern, F., Ein neues Bakterienfilter (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1. Orig. Bd. XXXIX, 1905, H. 2, p. 214—216, 1 Fig.).

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Jahrg. XIII, 1902. Leipzig (S. Hirzel) 1905; VIII u. 672 pp.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 448). 16 M.

Korté, W. E. de, The cultivation of the parasites of small-pox and vaccinia in vitro (Practitioner. vol. LXXV, 1905, p. 378—384, 2 Tfln.).

Kraft, E., Winke für die Ausführung chemisch-bakteriologischer Arbeiten auf dem Gebiete der Harn-, Sputum-, Fäces- etc. Untersuchungen. Berlin (Verlag d. deutsch. Apotheker-Ver.) 1905; 35 pp. 8⁰. 1 M.

Lentz u. **Tietz, J.**, Weitere Mitteilungen über die Anreicherungsmethode für Typhus- und Paratyphusbazillen mittels einer Vorkultur auf Malachitgrün-Agar (Klin. Jahrb. Bd. XIV, 1905, H. 5, p. 495—506).

MacWeeney, E. J.,) Staining the Spirochaete of Syphilis (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 529; vgl. Brit. Med. Journ. vol. I, 1905, p. 1262).

Mendoza, A.,) Staining the Tubercle Bacillus with Eosin (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 529; vgl. Bolet. Inst. Alfonso XIII. vol. I, 1905, p. 9).

Müller, P., Über den Nachweis von Typhusbazillen im Trinkwasser mittels chemischer Fällungsmethoden, insbesondere durch Fällung mit Eisenoxydchlorid (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LI, 1905, H. 1, p. 1—17).

Nicolle, F., Suite d'expériences relatives au phénomène de l'agglutination des microbes (Ann. de l'Inst. Pasteur t. XVIII, 1904, p. 210; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 454).

Noeggerath, C. T., u. Staehelin, R., Zum Nachweis der Spirochaete pallida im Blut Syphilitischer (München. med. Wochenschr. Jahrg. LII, 1905, No. 31, p. 1481).

Nowack, K., Über die Grenzen der Verwertbarkeit des Malachitgrünagars (Arch. f. Hygiene Bd. LIII, H. 4, p. 374; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 453).

Ocker-Blom, M., Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit mit bezug auf bakteriologische Zwecke (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1905, H. 1, p. 150; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 451).

Omelianski, W., Ameisensaures Natron enthaltende Bouillon als Nährboden zur differentiellen Diagnostik der Mikroben (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. XIV, 1905, No. 22, 23, p. 673—675).

Oppenheim, M., u. Sachs, O., Eine einfache und schnelle Methode zur deutlichen Darstellung der Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXI, 1905, No. 29, p. 1156).

Parkes, W. C. C., a. Joseph, F. H.,) Use of acid Media in Isolation of the Plague Bacillus (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 378; vgl. Brit. Med. Journ. vol. I, 1905, p. 136).

Perotti, R.,) Methods for isolating the micro-organisms of nitrification (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 376; vgl. Atti R. Accad. Lincei vol. XIV, 1905, p. 228).

Proca, G., et Vasilescu, V., Sur un procédé de coloration rapide du Spirochaete pallida (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LVIII, 1905, no. 23, p. 1044—1045).

Reischauer, Über den Nachweis von Typhusbazillen in den Darmentleerungen mit Verwendung der neueren Anreicherungsmethoden (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXIX, 1905, H. 1, p. 116—128).

Reitmann, K., Zur Färbung der Spirochaete pallida Schaudinn (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXI, 1905, No. 25, p. 997).

Schaer, Ed., Über eine neue Form von Reagiergläsern zu chemischen und bakteriologischen Zwecken (Zeitschr. f. analyt. Chemie Jahrg. XLIV, 1905, H. 6, 7, p. 396—397).

Schüller, M., Über die Chromatinkörper der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1904, H. 4, p. 547; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 451).

Statham, J. C. B., Cultivation of the Leishman Body (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 378; vgl. Journ. R. Army med. Corps vol. IV, 1905, p. 13, 321).

Taylor, A. E., On the Preparation of salt-free culture Media and the Growth of Bacteria upon them (Journ. exper. Med. 1905, no. 1).

Thesing, C., Ein Wort zu dem Aufsatze von Giemsa: Bemerkungen zur Färbung der Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. Bd. XXI, 1905, No. 32, p. 1279). — Antwort von Giemsa (ibid., No. 1279).

Triollet, M., Diapositif pour stériliser le catgut à l'autoclave (Ann. Inst. Pasteur t. XVIII, 1904, p. 267; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 454).

(**Watkins-Pitchford, H.**,) Bacteriology of Plague (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 3, p. 378; vgl. Rept. on the Plague in Natal 1902—1903. By E. Hill, London [Cassell a. Co.]; 192 pp., 1904).

Zlatogoroff, S. J., Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere [Bac. pseudotuberculosis rodentium] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII. H. 3, p. 345; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 452).

Zlatogoroff, S. J., Zur Mikrobiologie der Masern (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 2, p. 249; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 450).

d. Botanisches.

Allen, Ch. E., Nuclear division in the pollen mother-cells of Lilium canadense (Ann. of Bot. vol. XIX, 1905, p. 198; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 461).

Brand, F., Über die sogenannten Gasvakuolen und die differenten Spitzenzellen der Cyanophyceen, sowie über Schnellfärbung (Hedwigia Bd. XLV, 1905, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 458).

Fischer, A., Die Zelle der Cyanophyceen (Bot. Zeitg. Abt. 1, Orig. Bd. LXIII, 1905, H. 4 u. 6, p. 51; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 455).

Fischer, H., Über die kolloïdale Natur der Stärkekörner und ihr Verhalten gegen Farbstoffe (Beih. z. Bot. Zentralbl. Bd. XVIII, 1905, Abt. 1, p. 409; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 458).

Harz, C. O., Amylum, Amylodextrin und Erythrodextrin in ihrem Verhalten gegen Chromsäure (Beih. z. Botan. Zentralbl. Bd. XIX, 1905, Abt. 1, p. 45; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 459).

Leake, H. M., The localization of the indigo-producing substance in indigo-yielding plants (Ann. of Bot. vol. XIX, 1905, p. 297; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 461).

Miyake, K., Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII, 1905, p. 83; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 460).

Molisch, H., Über amorphes und kristallisiertes Anthokyan (Botan. Zeitg. Bd. LXIII, 1905, Abt. 1, H. 7, 8, p. 145; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 459).

(**Osterhout, W. J. V.,**) Imbedding Microscopic Algae (Journ. R. Microsc. Soc. 1905, pt. 4, p. 530; vgl. Univ. California Publ. Bot. vol. II, 1904, p. 85 u. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 527).

Overton, J. B., Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen (PRINGSHEIMS Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII, 1905, p. 121; vgl. diese Zeitschr. XXII, 1905, p. 460).

Shattuck, Ch. H., A morphological Study of Ulmus americana (Bot. Gaz. vol. XL, 1905, p. 209; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 463).

Shoemaker, D. N., On the Development of Hamamelis virginiana (Botan. Gaz. vol. XXXIX, p. 248—266, plates VI a. VII, April 1905; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 462).

Strasburger, E., Typische und allotypische Kernteilung. Ergebnisse und Erörterungen (PRINGSHEIMS Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XVII, 1905, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 460).

Wichmann u. Zikes, Ein neues Verfahren zur Reinzüchtung von Hefe (Zeitschr. f. Spiritusindustr. Bd. XXVIII, 1905, No. 31, p. 303).

York, H. H., The Agar-Agar and Paraffin Method for imbedding Plant Tissues (Ohio Naturalist vol. V, 1905, p. 344; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 462).

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Becke, F., Messung des Winkels der optischen Achsen aus der Hyperbelkrümmung (TSCHERMAKS mineral. u. petr. Mitteil. Bd. XXIV, 1905, p. 35—44 m. 3 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 464).

Doelter, C., Die Silikatschmelzen (Sitzber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXIII, 1904, Abt. 1, p. 177—249, 495—511; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 463).

Luczizky, W., Über die Dispersion der optischen Achsen bei den rhombischen Pyroxenen (TSCHERMAKS mineral. u. petr. Mitteil. Bd. XXIV, 1905, p. 140—143; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 464).

Seddig, M., Über „Wachstums“-Erscheinungen an Quecksilbertropfen (Physikal. Zeitschr. Bd. VI, 1905, p. 154—154; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 465).

Stead, J. E., Methods for Detecting the more Highly Phosphorised Portions in Iron and Steel (Journ. of the Roy. micr. Soc. 1905, pt. 2, p. 284—289 w. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 465).

Stead, J. E., Micro-Metallography with practical Demonstration (Journ. of the Roy. micr. Soc. 1905, pt. 2, p. 274—283 w. 1 fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 464).

Band XXII. Heft 4.

Ultramikroskopie der Oleosole.

Von

Josef Schneider u. **Jaroslav Just**[1]

in Prag.

I.

Bei den bisherigen ultramikroskopischen Arbeiten mit feinverteiltem Golde wurden wässerige Verteilungen und gefärbtes Glas untersucht. Bei den ersteren verhindert die sogenannte Molekularbewegung ein genaueres Beobachten der den Goldteilchen entsprechenden Scheibchen, bei dem Glase ist der Umstand unangenehm, daß das Gold quantitativ schwer zu bestimmen ist und daß an der Lage und Gruppierung der Teilchen nichts geändert werden kann. Dies führte mich dazu, Gold und andere edle Metalle in einer viskosen, jedoch vollständig gleichmäßigen und durchsichtigen, verbrennlichen Flüssigkeit zu fällen und dann ultramikroskopisch zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke eignen sich besonders gut sowohl fette, als auch ätherische Öle, da dieselben sehr leicht Edelmetalle reduzieren und sich mit den Reduktionsprodukten lebhaft färben.

Das Goldchlorid reagiert schon in wässeriger Lösung sehr gut mit Fetten und fetten Ölen und, wenn diese Reaktion in der technischen Analyse als eine zu wenig verläßliche keine große Beachtung gefunden hat, so ist der Grund davon darin zu suchen, daß die Färbung, welche von einer bestimmten Feinheit des Goldes abhängt, sich sehr rasch ändert infolge der Gruppierung der Teilchen.

Zu dieser Reaktion genügen sehr kleine Mengen des Öles oder

[1]) Der erste Abschnitt ist von JOSEF SCHNEIDER, der zweite von JAROSLAV JUST.

Fettes. Man kann auf Deckgläser mittels einer Schreibfeder feine Tröpfchen von Öl oder geschmolzenem Fett auftragen, das Deckglas auf der Goldchloridlösung schwimmen lassen und man wird sehen, wie bei manchen Fetten die Reaktion fortschreitet. Auf manche Öle und Fette, z. B.: Paraffin, Vaseline, Walrat, Wollschweißfett und Kokosnußöl hat die Goldlösung keinen Einfluß. Bei Wachs, Stearin, Talg und Dégras sehen wir, daß die Einwirkung zwar sehr schwach ist und erst nach einer Woche bemerkbar wird, daß aber doch an der Oberfläche wolkenförmige, oder kristallinische blaue, violette oder graue Goldniederschläge sich zeigen. Einen höheren Grad der Einwirkung können wir beim Olivenöl, Elaïn und Rizinusöl finden, wo sich durch die tiefere Einwirkung eine blaue, oder violettgraue gleichmäßige, oder aus sichtbaren Punkten bestehende Haut bildet, die später in eine grobkörnige, kristallinische Kruste übergeht. Besonders interessant sind jedoch diejenigen Öle, welche sich in der ganzen Masse diffus färben. Das Walratöl färbt sich lichtpurpurrot bis schwarz; die Färbung sammelt sich jedoch mit der Zeit und bildet einen blauen, violetten bis schwarzen Niederschlag. Das Leinöl färbt sich rotviolett bis schwarz. Die schönsten Färbungen traten beim Lebertran und bei dem Leinölfirnisse ein. Der Lebertran färbte sich dunkelrot, später blau bis schwarz und man konnte bei einem und demselben Tropfen alle Stufen der Färbung beobachten. Während das Zentrum noch farblos war, war das Öl weiter vom Zentrum rosarot bis rubinrot, an der Oberfläche war schon die blaue Haut und eine schwarze Kruste von grob niedergeschlagenem Golde. Der Leinölfirnis war indigoblau gefärbt; wenn sich jedoch diese blaue Färbung als blauer Schlamm kranzartig in dem Tropfen sammelte, blieb eine rote diffuse Färbung zurück.

Ähnliche Färbungen ergaben nach derselben Methode ätherische Öle und Harze. Bei diesen ist die Oberflächenfärbung sehr bunt und es tritt nicht nur die blaue und rote, sondern an manchen Stellen auch die gelbe Färbung ein.

Noch viel größere Unterschiede in der Färbung, jedoch nicht so schöne Farben finden wir bei Osmiumsäure. Bei Silber und Platin ist dagegen die Zahl der sich färbenden Fette und Öle sehr klein.

Die genannten Reaktionen zeigen, daß sich Öle und Fette diffus durch ultramikroskopisches Gold, resp. andere Metalle färben lassen, und daß sich die ultramikroskopischen Teilchen mit der Zeit mikroskopisch als Punkte und Krusten ausscheiden. Wenn auch die mikrochemischen Reaktionen der einzelnen Öle an demselben Nach-

teil leiden, wie die in der Histologie verwendeten Goldmethoden, d. i. der Unverläßlichkeit, so war doch zu hoffen, daß bei diesen einfacheren Körpern, d. i. Fetten und Ölen, durch die ultramikroskopische Kontrolle der Reaktionen die Prüfung mit Goldchlorid zu einer verläßlicheren ausgearbeitet werden könnte.

Bei der Ausführung der Reaktionen für die ultramikroskopische Kontrolle finden wir zwei Hindernisse. Bei großen Ölmengen tritt, wie man unten sehen wird, zu leicht die Gruppierung von ultramikroskopischen Teilchen zu groben Ausscheidungen ein; kleine Mengen von Öl, z. B. Tropfen, werden bei den bisherigen Küvetten zur Füllung derselben nicht reichen. Es mußte deshalb zur Reaktion etwa 1 cm^3 genommen werden; zur Aufnahme des untersuchten Öles wurden besondere von der optischen Werkstätte Carl Zeiss ausgeführte Küvetten verwendet. Dieselben bestehen aus einem niedrigen, oben und unten abgeschliffenen Glaszylinder von 2 mm Höhe und 18 mm Durchmesser, welcher in der Mitte hohl ist, und zwar so, daß die zylindrische Höhlung 3 mm Durchmesser hat. Dieser Glaszylinder ist der Achse parallel so abgeschliffen, daß in den inneren Raum durch eine angekittete Quarzplatte von 1 mm Dicke das Licht zugeführt werden kann. Der Glaszylinder ist wie bei einer feuchten Kammer, jedoch am Rande, an ein Objektglas angekittet, und wird nach dem Füllen mit einem gewöhnlichen, oder mit einem von der Firma Carl Zeiss vorgeschlagenen, versteiften Deckglase bedeckt. Das Quarzfensterchen, d. i. der Teil der Quarzplatte, welcher die Höhlung des Zylinders von der Seite abschließt, ist ebenso breit wie hoch (2 mm).

Diese Küvette eignet sich sowohl für die Untersuchung der Oleosole, als auch für die der Hydrosole. Ein Absetzen von Niederschlägen während der Beobachtung wurde selbst bei langen Beobachtungen nicht bemerkt. Der größte Vorteil ist aber der, daß zur ultramikroskopischen Beobachtung ein Tropfen von jeder Flüssigkeit genügt. Die Dimensionen des für das Öl bestimmten Raumes könnten noch etwas kleiner gewählt werden; ebenso könnte die Konstruktion vielfach abgeändert werden und haben wir der Firma Zeiss außer der beschriebenen Konstruktion besonders vorgeschlagen, in Metallplatten an einer Seite eine kleine Höhlung ausdrehen und mit einem eingefaßtem Quarzfensterchen versehen zu lassen, um ein Verkitten der Bestandteile zu vermeiden. Die Wahl des Kittes bei Glasküvetten muß sich nach dem untersuchten Materiale, sowie nach der nötigen Spülflüssigkeit richten.

Bei der Verwendung dieser Küvetten muß man sich ebenso wie bei den bisherigen für Durchfluß eingerichteten am meisten vor Luftblasen hüten, da dieselben das Licht seitlich brechen und dann Teilchen sichtbar machen, welche sonst unsichtbar wären. Man muß deshalb einen so großen Tropfen der untersuchten Flüssigkeit in den Glaszylinder fallen lassen, daß die Flüssigkeit an der Oberfläche einen in die Höhe kappenförmig steigenden Kugelabschnitt bildet, auf welchen man das Deckglas langsam legt. Das ausfließende Öl muß dann von dem Fensterchen durch Filtrierpapier entfernt werden.

Zur Untersuchung der Öle eignen sich besser Trockensysteme als diejenigen mit Wasserimmersion, weil das Öl leicht zum Wasser kommt und dann auf demselben in die Höhe steigt. Bei der Verwendung dieser Küvette ist noch darauf zu schauen, daß das Licht genau senkrecht auf das Glasfensterchen falle, weshalb es angezeigt wäre, anstatt des hochstellbaren Objekttisches No. 26 des Zeissschen Preisverzeichnisses, M. 163, einen solchen zu verwenden, der eine Neigung nach rückwärts und vorwärts erlauben würde. Bei wenig durchsichtigen Flüssigkeiten kann es auch darauf ankommen, ob der Lichtkegel dem Deckglase näher, oder von demselben entfernter steht. Die andern Vorsichtsmaßregeln ergeben sich aus der Beschreibung der Arbeit im zweiten Teile.

Um auch feste Fette, Wachs, Harze etc. ultramikroskopisch untersuchen zu können, wurde die Firma Carl Zeiss um die Anfertigung einer heizbaren Küvette in Form der oben genannten, mit Höhlung und Fensterchen versehenen, jedoch auch für Durchfluß von heißem Wasser eingerichteten Metallplatten gebeten. Diese heizbare Küvette hat sich im Laufe der Arbeit auch für Öle notwendig gezeigt, um die festen, leichtschmelzenden Ausscheidungen von Fetteilchen aus Ölen zum Verschwinden zu bringen.

Endlich mußte derselben Firma der Antrag gestellt werden, Doppelultramikroskope mit einer Lampe zu bauen, um die Reaktionen zweier Körper bei derselben Lichtintensität vergleichen zu können, da sehr oft das Resultat von Zählungen und Messungen bei einem und demselben Öle nach der Intensität des Lichtbogens variiert und durch die angeführte Konstruktion dieser Einfluß beseitigt werden könnte. Es genügt nicht in dem Leitungsdraht denselben Strom zu erhalten.

Das Studium der ersten und einfachsten bei Fett- und Harzkörpern sich darbietenden Aufgabe, die Prüfung der Reaktionen mit Edelmetallsalzen und besonders mit Goldchlorid bei fetten Ölen über-

nahm mein Schüler JAROSLAV JUST und führte dieselben in meinem Laboratorium aus. Seine Resultate und Schlüsse sind im nachfolgenden beschrieben. Es sei nur noch bemerkt, daß alle Zahlen von mir nachkontrolliert und richtig befunden wurden; die Kontrolle war deshalb wichtig, um jedes Bedenken, daß die Zahlen von der Empfindlichkeit des Auges abhängen könnten, zu beseitigen.

II.

In der chemischen Technologie und besonders in deren Hilfswissenschaft, der technischen Analyse, öffnet sich ein weites Arbeitsfeld dadurch, daß man eine große Zahl von unerklärten Erscheinungen mit Hilfe des Ultramikroskopes von SIEDENTOPF und ZSIGMONDY studieren kann, und daß man dort, wo die bisherigen Prüfungsmethoden nicht ausreichten, über eine neue Kontrolle verfügt.

Die gegenwärtige Arbeit ist ein Versuch, eine sehr interessante, jedoch wenig erklärte, und wenig verläßliche makroskopische und mikroskopische Reaktion der fetten Öle ultramikroskopisch zu überprüfen: die Reaktion mit dem Goldchloride. Die fetten Öle müssen ihrer chemischen Zusammensetzung entsprechend im Goldchloride und den Edelmetallsalzen überhaupt eine Reduktion hervorrufen, bei der man erwarten kann, daß die reduzierte Menge und die Heftigkeit der Reduktion mit der Jodzahl steigen wird. Es wird jedoch jedes Öl nach seinen besonderen physikalischen Eigenschaften verschieden fähig sein, das Reduktionsprodukt, d. i. das Gold in sich schwebend zu erhalten. Wirkt die Goldchloridlösung auf Öle ein, so tritt entweder ein Ausscheiden von metallglänzendem Golde ein, oder eine Blaufärbung durch mehr oder weniger grobe, leicht zum Absetzen geneigte Teilchen, oder eine Rotfärbung durch ultramikroskopisches Gold, in besonderen Fällen eine Gelbfärbung, oder es ist keine Veränderung sichtbar. Daß diese, bei manchen Ölen besonders schön auftretende Reaktion praktisch wenig geschätzt ist und selbst in der Analyse der Fette und Wachsarten von BENEDIKT und ULZER nicht berücksichtigt wurde, hat seine Ursache darin, daß die Resultate der Reaktion von den Bedingungen zu sehr abhängig sind. Je nach dem Lösungsmittel, der Temperatur, der Zeit, der Bewegung und der Ölmenge bleibt die Reaktion auf einer immer anderen Stufe stehen und man kann deshalb aus derselben nur dann Schlüsse ziehen, wenn man durch vergleichende Versuche die, den betreffen-

den Bedingungen zugehörige Reaktionsstufe auch bei sicheren Typenmustern hervorgerufen hatte.

Sehr interessant ist auch die mikrochemische Reaktion, wo nicht nur die verschiedenen Formen der makroskopischen Reaktion betrachtet, sondern auch deren Übergang verfolgt werden kann. Es ist jedoch wichtig, hier der prinzipiellen Unterschiede zwischen den mikrochemischen Reaktionen der Öle und solchen in der Histologie bei der Prüfung von Zellgeweben vorkommenden Reaktionen zu gedenken. Bei den Ölen hängt das Resultat, von den oben genannten Bedingungen abgesehen, nur von zwei Faktoren ab, d. i. von der Reduktion durch das Öl und von der, der physikalischen Zusammensetzung entsprechenden Fähigkeit des Öles, Goldteilchen in Verteilung zu erhalten.

Die Reaktion bei komplizierten Geweben ist dagegen abhängig von der Reduktionsfähigkeit sämtlicher in den Zellen vorkommenden Stoffe, von dem Quellungsgrade, welcher nach der Anwendung von Fixier- und Aufhellungsmitteln eingetreten ist, von der Lichtwirkung und von den Reagentien mit welchen man nach der Tränkung mit den Lösungen von Goldverbindungen die Reduktion im untersuchten Gegenstande vollendet, manchmal auch mäßigt oder einstellt. Es kann sich auch das Gold der verschiedenen Goldpräparate und Goldlösungen, welche oft auch Auroverbindungen enthalten, von den zahlreichen vorhandenen Eiweißstoffen nicht gleichmäßig sammeln, binden und reduzieren.

Um die Goldreaktion der fetten Öle mit Hilfe des Ultramikroskopes aufzuklären, wurde eine Anzahl derselben aus der Reihe der industriell wichtigsten Öle zur Prüfung gewählt, und zwar so, damit jede chemisch charakterisierte Gruppe vertreten sei. Außerdem wurden auch einige Fabriksprodukte untersucht. Die ausgewählten Öle und öligen Fabrikate hatten folgende Farbe und Beschaffenheit:

1. Leinöl war . . . . gelb, klar.
2. Leinölfirnis . . . . braunorangegelb, schwach trüb.
3. Hanföl . . . . gelb, klar.
4. Nußöl . . . . gelb, schwach trüb.
5. Mohnöl . . . . farblos, klar.
6. Japanisches Holzöl . . . . . . lichtgelb, klar.
7. Olivenöl . . . . gelblich, ganz schwach trüb.
8. Arachisöl . . . . gelblich, klar.
9. Baumwollsamenöl . . . . . . gelb, trüb.
10. Sesamöl . . . . rötlich, klar.
11. Rapsöl . . . . gelblich, schwach getrübt.

12. Rizinusöl	farblos, klar.
13. Pferdeöl	lichtgelb, fast klar.
14. Elaïn-Destillat	orangegelb, fast klar.
15. Elaïn-Saponifikat	orangegelb, getrübt.
16. Lebertran	gelb, klar.
17. Dreikronentran	rotbraun, klar.
18. Walratöl	orangegelb, klar.
19. Gelbes Mineralöl	gelb, klar.
20. Paraffinöl	farblos, klar.

Es sei ausdrücklich bemerkt, daß bei diesen Versuchen absichtlich auch getrübte Handelsöle, oder Öle, die beim Stehen und geringer Abkühlung Trübungen ausschieden, in die Arbeit genommen wurden, und zwar aus dem Grunde, weil die Versuche auch den Einfluß der Trübungen auf die Reaktionen zeigen sollten und überhaupt die Handelsöle und nicht durch Ausfrieren und Pressen präparierte Öle untersucht werden sollten.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der genannten Öle wurden bei Sesam-, Rizinus- und Rapsöl keine Verunreinigungen gefunden, bei Leinöl, Leinölfirnis, japanischem Holzöl, Hanf-, Oliven-, Arachis-, Walrat-, Mineral- und Paraffinöl fand man nur ausnahmsweise Teilchen von Verunreinigungen, dagegen bei Nuß-, Mohn-, Baumwollsamen und Pferdeöl, bei Elaïn-Destillat und Saponifikat wurden zahlreiche Klumpen von Fettkristallen, bei Leber- und Dreikronentran wurden einzelne und zu 2 oder 3 gruppierte etwa 2 μ lange Stäbchen aus Fett gefunden.

Bei der ultramikroskopischen Prüfung wurde folgender Vorgang eingehalten: Noch vor dem Einstellen des Mikroskopes wurde notiert, in welcher Farbe und Lichtintensität der Lichtkegel dem freien Auge erscheint, und zwar wie er gleich hinter dem Fensterchen und wie er rückwärts beschaffen ist; nach Bedarf wurde auch sichergestellt, welches Licht sich hinter der beobachteten Flüssigkeit in den Glaszylinder ausbreitet. Nach der Einstellung des Mikroskopes auf den Kegel wurde die Farbe und Lichtintensität des Kegels im Mikroskop notiert, dann die Anzahl, die Farbe, die Leuchtkraft und Größe respektive Sichtbarkeit der leuchtenden Punkte, der mit Interferenzkreisen umgebenen Punkte und der Punktegruppen. Mit Rücksicht darauf, daß die Anzahl der Punkte und Gruppen, die im Ultramikroskope sichtbar sind, oft sehr klein ist, wurde für diesen Fall neben den 18 Quadraten des Okularzählapparates, die zusammen als Flächeneinheit beim Zählen dienen, noch eine größere Einheit eingeführt, und zwar der

ganze Lichtkegel, soweit er im Sehfelde sichtbar ist, bei einer solchen Einstellung des Spaltes, daß die engste Stelle des Kegels der dreifachen Seite eines Zählquadrates gleich sei, wobei noch zu bemerken ist, daß sämtliche Zählungen mit dem Objektive C und Okulare 4 (Zeiss) vorgenommen wurden. Ein Quadrat des Zählokulares entspricht im Objekte einer Fläche von 225 μ^2, die 18 Quadrate 4050 μ^2, der ganze Kegelschnitt etwa 45000 μ^2. Es ist also die genannte neue Einheit elfmal größer als die 18 Quadrate zusammen, was auch bei Zählungen bestätigt wurde. Die Höhe des Spaltes wurde auf 0·2 mm eingestellt.

Beim Heben des Tubus mittelst der feinen Einstellvorrichtung umgeben sich manchmal die Punkte und Gruppen mit Interferenzringen in verschiedener Zahl; die Ringe werden immer größer, dabei jedoch auch lichtschwächer, bis sie dem Auge verschwinden. Beim Senken des Tubus verschwinden die Punkte und Gruppen ohne die Bildung von Ringen. Die Höhendifferenz zwischen jener Einstellung, wo die Punkte und Gruppen bei der Senkung des Tubus verschwanden und zwischen jener Einstellung, wo der letzte größte Kreis bei der Hebung des Tubus verschwand, ist charakteristisch für die Feinheit der Goldteilchen und Gruppen. Diese Höhendifferenz, in μ ausgedrückt, ist im folgenden mit dem Buchstaben Δ bezeichnet. Mit diesem Werte hängt zusammen der Durchmesser des größten Kreises vor dem Verschwinden; soweit nur diese Größe bestimmt wurde, ist sie angeführt und ist mit dem Buchstaben Φ bezeichnet, u. zw. wurde bei deren Ermittlung als Längeneinheit die Seite eines Quadrates des Zählokulars gewählt. Durch die Division aller bestimmten Δ durch die zugehörigen Φ wurde gefunden, daß Δ meistens 22 bis 25 Φ gleich ist. Bei beweglichen Teilchen in Hydrosolen mußten wir uns mit der Bestimmung von Φ begnügen; ist dagegen der Kegel und mit ihm auch die Quadrate unsichtbar, so ist wieder die Bestimmung von Δ verläßlicher. Außer den durchschnittlichen Werten von Δ und Φ wurden, wo es belehrender zu sein schien, deren Maxima bestimmt.

Da die mit Kreisen umgebenen Punkte verschiedenen Teilchen und Gruppen angehören können, so wurden neue Unterscheidungsmerkmale gesucht. Bei den Interferenzringen, die sich um Punkte und Gruppen bilden, wurde die Anzahl, die Farbe und die Lichtintensität, angegeben, u. zw. nicht nur bei der scharfen Einstellung auf den Kegel resp. auf die Mehrzahl der Punkte, sondern auch

bei einer um 20 μ höheren Einstellung. Es wurde auch der mittlere Durchmesser der äußersten Ringe bei den mit Kreisen umgebenen Punkten nach der Hebung des Tubus von 20 μ durch Messungen bestimmt. Bei diesem letzten zeigte sich jedoch kein praktischer Wert: derselbe war in keiner Beziehung zu anderen Befunden und Eigenschaften, weshalb diese Zahlen bei den Versuchsergebnissen nicht angeführt werden. Dagegen bewährte sich die Sicherstellung der Anzahl der mit Ringen umgebenen Punkte, sowie die Sicherstellung der Zahl, der Farben, der Lichtintensität und der Schärfe der Kreise nach dem Heben des Tubus um 20 μ als sehr belehrend und wichtig.

Bei den Zählungen wurden die mit Interferenzkreisen umgebenen Punkte oder Systeme konzentrischer Kreise ohne sichtbare Mittelpunkte überall zu den Punkten gezählt, obzwar man annehmen muß und es sich auch oft durch die scharfe Einstellung beweisen läßt, daß sich die Kreise nur um Punktepaare und Gruppen bilden.

Den letzten Teil der ultramikroskopischen Untersuchung eines jeden Öles bildete die Sicherstellung des Befundes bei Anwendung des Polarisations-Analysators. Bei den Angaben, wie sich die Farben durch das Drehen des Analysators verändern, bedeutet die erste Farbe diejenige, die zu sehen ist, wenn der beleuchtende und der abgebeugte Strahl in der Symmetrieebene des Zeissschen Analysators liegen.

Da zu erwarten war, daß die vorerwähnten Öle und Fabriksprodukte im normalen Zustande auch ultramikroskopische Teilchen enthalten werden, so wurde die ultramikroskopische Untersuchung zuerst bei den Ölen selbst, d. i. vor der Reaktion vorgenommen.

Ultramikroskopische Befunde bei den Ölen vor der Reaktion.

1. Leinöl. Das freie Auge sah einen lichtschwachen, blassen Kegel, im Ultramikroskope war derselbe bläulich weiß, wenig hell, und man sah meistens keine Punkte, ausnahmsweise 1 oder 2 im ganzen Kegel. Die Punkte waren weiß oder orangegelb ohne Ringe oder mit bis 3 Ringen. ∠60. Bei der Beobachtung mittels des Analysators verdunkelte sich beim Drehen desselben der Kegel, die Farbe der Punkte veränderte sich und schwankte zwischen der roten und der grauen.

2. Leinölfirnis. Das freie Auge sah einen grünlichweißen Kegel: auch im Ultramikroskope war der Kegel grünlichgelbweiß, gewöhnlich ohne Punkte. Ausnahmsweise wurden im ganzen Kegel 2 bis 3 Punkte ohne

Kreise oder mit denselben oder auch Doppelpunkte und Gruppen von 18 stark leuchtenden Punkten gefunden. ⊿ bei Punkten 44. Durch den Analysator trat keine Veränderung in der Farbe ein, beim Drehen desselben verdunkelte sich der Kegel, die einzelnen Punkte, sowie diejenigen in den Gruppen verblaßten, veränderten aber nicht auffallend die Farbe.

3. Hanföl. Das freie Auge sah einen blaugrünlichen Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe hell, milchweiß und enthielt feine weiße Punkte, etwa 10 auf ein Quadrat; außerdem fand man im ganzen Kegel 8 weiße, größere Punkte ohne Kreise, oder mit einem Kreise, und ausnahmsweise Gruppen z. B. von 11 Punkten. ⊿ 60. Durch den Analysator wurde die Farbe nicht verändert, beim Drehen desselben verdunkelte sich der Kegel, die kleinen Punkte und diejenigen in den Gruppen verschwanden, die größeren verblaßten.

4. Nußöl. Das freie Auge sah einen weißen Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe milchweiß, wenig hell, und enthielt 40 Gruppen von verschiedener Größe, von solchen, welche 6 Punkte zählten bis zu solchen, welche sich über 6 Quadrate ausbreiteten und in einem Quadrate 32 weiße Punkte enthielten. Zwischen den Gruppen waren auch einzelne Punkte. Durchschnittlich kommen auf 18 Quadrate im ganzen 30 Punkte. Beim Heben des Tubus umgaben sich nur die einzelnen Punkte mit Kreisen. Die Kreise waren nur lichtschwach: ⊿ 54. Im Analysator erschien die weiße Farbe der Punkte nicht verändert, beim Drehen desselben verdunkelte sich der Kegel, die feinen Punkte verschwanden, die hellen verblaßten.

5. Mohnöl. Das freie Auge sah einen bläulichen Kegel; im Ultramikroskope war der Kegel bläulich, wenig hell, und enthielt höchstens 14 Punkte, welche teilweise mit bis 4 bunten Kreisen umgeben waren. ⊿ 44. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die feinen Punkte verschwanden, die mit Kreisen umgebenen veränderten die Farbe.

6. Japanisches Holzöl. Das freie Auge sah einen weißen Kegel; im Ultramikroskope war der Kegel hell, blauweiß und enthielt 18 Punkte mit 3 bis 5 Kreisen und eine Gruppe von 10 Punkten. ⊿ 174. Im Analysator erschienen die Punkte bunter, beim Drehen desselben verdunkelte sich ein wenig der Kegel und die Punkte verschwanden. — Wenn sich das Öl in der Kälte trübte, so fand man im Kegel 1 bis 2 Gruppen von gelben, sternartig gruppierten Nadeln, die mit lichteren Punkten bedeckt waren. Im Analysator veränderten diese Punkte die Farbe, die Nadeln verschwanden.

7. Olivenöl. Das freie Auge sah einen weißen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe dunkel und enthielt 85 Punkte, von denen die Mehrzahl mit 6 Kreisen umgeben war. Auffallend war die bunte Färbung. ⊿ 174. Außerdem fand man im ganzen Kegel 2 Gruppen von 3 und 7 Punkten. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel ganz, und die Farben der Punkte uud der Kreise veränderten sich z. B. von hellrot in blaßgrünlich. — Für die Reaktionen mit den Verbindungen anderer Metalle als Gold wurde ein anderes gelberes Öl verwendet, bei welchem das freie Auge einen rosaroten Kegel sah und dieser im Ultramikroskope dunkelrot, wenig leuchtend war. Der Kegel enthielt 8 bis 12 verschieden gefärbte Punkte ohne Kreise oder mit bis 2 Kreisen. ⊿ 50.

8. Arachisöl. Das freie Auge sah einen kaum deutlichen, bläulichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe dunkel und bläulich und enthielt 13 Punkte ohne Kreise oder mit farbigen Kreisen und eine Gruppe von 13 Punkten. Δ_{max} 86. Beim Drehen des Analysators verschwanden sowohl der Kegel als auch die Punkte und Kreise.

9. Baumwollsamenöl. Infolge der Trübung war der Kegel nicht scharf abgegrenzt und man sah nur das Sehfeld durch einen lichteren Streifen geteilt. In den 18 Quadraten waren 6 bis 10 Kreise schwach sichtbar; ihr Durchmesser betrug eine halbe bis anderthalb Quadratseiten.

10. Sesamöl. Das freie Auge sah einen weißen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe milchweiß und verdunkelte sich beim Drehen des Analysators in grau. Es waren keine Punkte zu sehen.

11. Rapsöl. Das freie Auge sah einen bläulichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe bläulichweiß und enthielt 110 Punkte, die teilweise mit bis 4 sehr bunten Kreisen umgeben waren. Unter den Farben war auch die violette vertreten. Die großen Kreise waren auf jeder Seite verschieden gefärbt, z. B. die eine Hälfte rot, die andere grün. Δ 84. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel und veränderte die bläuliche Farbe in grau. Die Punkte verblaßten, die Kreise verschwanden.

12. Rizinusöl. Das freie Auge sah einen grauen, wenig leuchtenden Kegel; im Ultramikroskope war derselbe milchweiß, jedoch nicht hell und enthielt höchstens 25 weiße Punkte, von denen einige mit bis 4 farbigen Kreisen umgeben waren. Δ 240. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Punkte verblaßten, die Kreise verschwanden fast und veränderten die Farbe.

13. Pferdeöl. Das freie Auge sah einen weißen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe fast unsichtbar. Nur wo die Punkte dichter waren, war er schwach weiß. Man sah in demselben etwa 35 weiße Punkte von Δ 60 und 20 bis 40 Gruppen, davon eine oder 2 besonders leuchtende. Die Gruppen waren bis 4 Quadrate groß und enthielten in einem Quadrate etwa 20 weiße Punkte ohne Kreise. Die Punkte der Gruppen schienen auf nadelförmigen Kristallen zu liegen. Im Analysator waren die Punkte nicht bunter, beim Drehen desselben verdunkelte sich der Kegel fast bis zur Unsichtbarkeit und die Punkte verblaßten.

14. Elaïn-Destillat. Das freie Auge sah einen hellblauen, sehr lichten Kegel; im Ultramikroskope war derselbe milchweiß und enthielt etwa 12 weiße, stärker leuchtende Punkte, davon einen mit 1 Kreise, Δ 140, außerdem etwa 50 kaum sichtbare Punkte. Im Analysator blieb alles weiß, beim Drehen desselben verdunkelte sich der Kegel und die Punkte verschwanden.

15. Elaïn-Saponifikat. Das freie Auge sah einen lichtblauen, hellen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe milchweiß, jedoch nicht besonders lichtstark. Er enthielt etwa 20 weiße, blasse und 20 schwach gefärbte, helle Punkte; die letzteren hatten bis 6 farbige Kreise, z. B. rote und grüne oder violette und gelbe. Δ 160. Im Analysator erschienen die Farben bunter, beim Drehen desselben verdunkelte sich der Kegel, die feinen Punkte verschwanden, die hellen und die Kreise veränderten die Farbe und Helligkeit.

16. Lebertran. Das freie Auge sah einen hellen, blaugrünen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe weiß, lichtschwach und enthielt 7 weiße Punkte von verschiedener Größe. 1 Punkt hatte 2 farbige Kreise. ⊿50. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die blassen Punkte verschwanden, die stark leuchtenden verblaßten, bei den Kreisen veränderte sich die Farbe und Helligkeit.

17. Dreikronentran. Dem freien Auge erschien der Kegel grünlich weiß, rückwärts orangegelb; im Ultramikroskope war derselbe hellgelbbraun, ohne Punkte. Beim Drehen des Analysators verdunkelte er sich. Ausnahmsweise fand man im ganzen Kegel 1 oder 2 Punkte ohne Kreise, oder eine Gruppe von 40 Punkten, welche beim Drehen des Analysators nacheinander verschwanden.

18. Walratöl. Das freie Auge sah einen hellen, blaugrünen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe hell, gelbgrün und enthielt entweder keine Punkte oder höchstens 10 sehr schwach sichtbare, ausnahmsweise Punkte mit Kreisen. ⊿20. Einmal wurde eine Gruppe von 30 Punkten gefunden. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die helleren Punkte verblaßten, die andern, sowie auch die Kreise und die Gruppe verschwanden.

19. Gelbes Mineralöl. Dem freien Auge erschien der Kegel vorne blau, rückwärts grün; im Ultramikroskope war derselbe deutlich und blau, und enthielt 1 bis 10 weiße, wenig helle Punkte ohne Kreise. ⊿12. Ausnahmsweise erschien eine Gruppe von 20 Punkten und einzelne hellere Punkte mit bunten Kreisen. ⊿70. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Punkte und die Kreise verschwanden.

20. Paraffinöl. Das freie Auge sah einen himmelblauen Kegel; dieselbe Farbe hatte der Kegel im Ultramikroskope und war frei von Punkten. Beim Drehen des Analysators blieb er blau. Ausnahmsweise wurden im ganzen Kegel bis 25 Punkte gefunden, welche fast durchwegs mit farbigen Kreisen umgeben waren und beim Drehen des Analysators verschwanden. Ein andermal kam eine Gruppe von 40 hell leuchtenden, schwach gefärbten Punkten vor, welche beim Drehen des Analysators verblaßten. —

Fassen wir die vorerwähnten Befunde zusammen, so sehen wir folgendes: Der Kegel erscheint dem freien Auge um so weißer, je mehr Fettgruppen er enthält. Wo nur Punkte vorkommen, dort ist der Kegel blaß, blau oder nach der Farbe des Öles blaugrün bis orangegelb gefärbt. Die einzelnen den Fettteilchen entsprechenden Punkte sind weiß. Sind sie fein, so verschwinden sie schnell beim Heben des Tubus, ohne sich mit Kreisen zu umgeben, und auch beim Drehen des Analysators verschwinden sie, ohne die Farbe zu verändern. Am zahlreichsten sind sie beim Hanföle, 10 in 1 Quadrat. Umgeben sich die dem Fette entsprechenden Punkte beim Heben des Tubus mit Kreisen, so sind diese Kreise entweder undeutlich blaß, wenig gefärbt, von kleinem ⊿ und Φ, und es

werden diese Kreise beim Drehen des Analysators nicht bunter und verändern dieselben nicht die Farbe, sondern verblassen oder verschwinden, — oder es sind die Kreise bunt, deutlich, hell, von großem Δ und Φ, ihre Farbe erscheint im Analysator noch bunter und es wechselt beim Drehen desselben die gelbe und die violette, die rote und die grüne Farbe ab. Diese Farbenveränderung sehen wir manchmal auch ohne den Analysator beim langsamen Heben des Tubus. Ein Beispiel der ersteren ist das Nuß-, Hanf- und Pferdeöl, ein Beispiel der anderen ist das Oliven-, Raps- und Rizinusöl, sowie das Elaïn-Saponifikat. Die den Fettteilchengruppen entsprechenden Punktegruppen bestehen entweder aus blassen oder aus hellen, aus weißen oder aus bunten Punkten, die zu 3 bis 200 beisammen sind und sich beim Heben des Tubus entweder mit Kreisen umgeben oder nicht. Die feinen Punkte der Gruppen verschwinden gewöhnlich beim Drehen des Analysators, die hellen ändern meistens die Farbe. Diese dem gefällten Fette entsprechenden Befunde sind überall von den nach der Reaktion sichergestellten ultramikroskopischen Befunden abzurechnen.

Vergleichende Versuche zur Sicherstellung des Einflusses des Goldchlorids auf verschiedene Öle.

Bei diesen Versuchen war zuerst zu entscheiden, welches Lösungsmittel für das Goldchlorid genommen werden sollte. Bei wässerigen Lösungen war zu befürchten, daß sich dieselben mit den Ölen absolut nicht mischen und deshalb auch unvollkommen einwirken werden; anderseits lösen wieder die Fettlösungsmittel nicht das Goldchlorid. Bei alkoholischen Lösungen konnte wenigstens eine geringe Mischbarkeit mit den Fettölen erwartet werden, dafür aber wurde die Reaktion bei Gegenwart eines dritten Körpers, d. i. des Alkohols, ausgeführt, der bei günstigen Verhältnissen selbst eine Reaktion verursachen oder unterstützen konnte. Infolgedessen und auf Grund von Vorversuchen wurde die Reaktion sowohl mit einer alkoholischen als auch mit einer wässerigen Goldchloridlösung ausgeführt. Zu diesen Grundversuchen wurde je ein Gramm eines jeden Öles abgewogen und 0·05 cm^3 einer Lösung von 6 g Goldchlorid per Liter zugesetzt.

Bei den mit der alkoholischen Lösung versetzten Ölen trat schon nach einem halbstündigen Erwärmen im Wasserbade ohne

Schütteln eine deutliche Veränderung ein, weshalb die Reaktion unterbrochen wurde.

Makroskopischer Befund. Die beim Vergleiche mit der ursprünglichen Farbe der Öle gefundenen Farbenveränderungen lassen sich nach der Deutlichkeit in die folgende Skala zusammenstellen: Am meisten färbte sich das Mohnöl, u. zw. blauviolett, dann das Olivenöl rotviolett, das Sesamöl violett, das Hanföl und der Lebertran rot, der Leinölfirnis und das Walratöl blutrot, das japanische Holzöl grauviolett, das Rizinusöl grau, das Leinöl orangegelb (mit einem schwarzen Niederschlage), das Baumwollsamenöl bräunlich, das gelbe Mineralöl ein wenig orangegelber, das Pferdeöl und die Elaïne grünlicher, das Rapsöl gelblich; der Dreikronentran war etwas dunkler und trüber, das Arachisöl etwas lichter. Es traten keine Veränderungen ein beim Nußöle und dem Paraffinöle.

Nach 14 Tagen wurden dann folgende Veränderungen des vorerwähnten Befundes beobachtet: Aus dem Mohnöle setzte sich ein blauschwarzes Pulver ab und das Öl war fast entfärbt; aus dem Olivenöle setzte sich auch ein blauer Niederschlag ab, und das Öl blieb bläulich rosa; aus dem Sesamöle setzte sich ein blauer Niederschlag ab und das Öl blieb rosa, die Farbe entsprach dann einer coupierten Farbe des Rubinglases. Aus dem Lebertrane setzte sich ein purpurroter Niederschlag ab und das Öl behielt die Farbe des Rubinglases. Aus dem Firnis setzte sich nur ganz wenig eines blauen Niederschlages an der Wand ab, und die Farbe blieb unverändert. Das Rapsöl wurde grünlich und zeigte einen schwachen Goldschimmer. Beim Nußöle trat eine rosarote Färbung ein; die anderen Öle blieben unverändert.

Weil bei einem ähnlichen Erwärmen mit der wässerigen Goldchloridlösung ohne Schütteln nur eine schwache Reaktion, u. zw. bei dem Mohnöle in Form einer Blaufärbung, beim Olivenöle als eine rotviolette und beim Rizinusöle als eine graue Färbung eintrat, so wurde noch weiter, im ganzen zwei Stunden lang, ohne Schütteln erwärmt. Die Reaktion trat nun auch bei einigen Ölen ein, wo sie früher fehlte.

Makroskopischer Befund. Am deutlichsten war die Färbung beim Olivenöle, u. zw. rotviolett; bei den anderen Ölen wurden in folgender Reihe abnehmende Veränderungen gefunden: eine Violettfärbung beim Mohn-, Pferde-, Nuß-, Sesam-, Rizinus- und Baumwollsamenöle; eine Färbung ins Grünliche beim Leinöle (mit einem schwarzen Niederschlage), bei den Elaïnen und dem Leber-

trane: eine Färbung in orangegelb bei dem Walrat- und dem Hanföle. Beim Arachisöle trat eine Entfärbung, beim Dreikronentrane eine schwache Verdunkelung ein. Das Rapsöl, das japanische Holzöl, das Mineralöl und das Paraffinöl waren unverändert.

Nach 14 Tagen wurden folgende Veränderungen beobachtet: Aus der roten Farbe des Olivenöles blieb nur das Rot zurück, es zeigte sich ein goldener Schimmer und es setzte sich ein goldglänzender Niederschlag ab. Beim Hanf- und Walratöle zeigte sich auch der goldene Schimmer und der goldglänzende Niederschlag, beide waren jedoch dunkler als beim Olivenöle. Das Mohnöl entfärbte sich und die Wand überzog sich mit einem goldglänzenden Belage. Aus der Farbe des Pferdeöles blieb nur die rote Komponente zurück und es setzte sich ein goldglänzender Niederschlag ab. Im Nußöle blieb ebenso nur die rote Komponente der Farbe zurück und es setzte sich ein goldglänzender Niederschlag ab. Das Sesamöl bekam die ursprüngliche Farbe und schied einen schwarzen Niederschlag aus. Das Rizinusöl bekam eine lichtgraue Farbe, es trat Goldschimmer ein und an der Wand setzte sich ein goldglänzender Belag ab. Die Elaïne bekamen ihre ursprüngliche Farbe und es bildete sich ein geringer, schwarzer Niederschlag. Beim Lebertrane blieb nur ein roter Strich der Färbung deutlich und es setzte sich ein geringer, goldglänzender Niederschlag ab. Beim japanischen Holzöle blieb nur ein rötlicher Stich zurück, das Paraffinöl färbte sich bräunlich-weiß durch ausgeschiedene Fettteilchen.

Ultramikroskopischer Befund. Bei den nachfolgenden Befunden sind die bei der alkoholischen Goldchloridlösung sichergestellten Befunde mit dem Buchstaben A, bei der wässerigen mit dem Buchstaben W bezeichnet. Es ist hier nur dasjenige beschrieben, was sich von dem Befunde beim ursprünglichen Öle unterscheidet oder was besonders hervorzuheben war.

1. Leinöl. A. Das freie Auge sah einen weißen, rückwärts gelblichen Kegel; im Ultramikroskope war der Kegel weiß, jedoch sehr wenig hell und enthielt 36 orangegelbe Punkte; hiervon waren 31 mit Ringen. Δ_{max} 140. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren im ganzen Kegel 40 Punkte mit Kreisen. Beim Drehen des Analysators war die Farbenveränderung der Ringe etwas deutlicher als vor der Reaktion.

W. Das freie Auge sah einen weißen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe milchweiß und enthielt 9 Punkte, davon 7 mit 1 bis 3 Kreisen, außerdem eine Gruppe von 28 Punkten. Die Kreise waren bunter, rötlich und grünlich. Δ_{max} 212. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren im ganzen Kegel 12 Punkte mit Kreisen sichtbar; die Farbenveränderung beim Drehen des Analysators war noch auffallender als im vorigen Falle A.

2. Leinölfirnis. A. Das freie Auge sah einen orangeroten Kegel; derselbe war im Ultramikroskope licht orangegelb. In 18 Quadraten waren 40 Punkte. Nach 14tägigem Stehen, als sich ein blauschwarzer Niederschlag absetzte, waren im ganzen Kegel nur 5 Punkte, davon einer mit 1 Kreise und außerdem eine Gruppe von 6 Punkten zu sehen. Δ_{max} 80. Beim Drehen des Analysators veränderte sich die Farbe der Punkte: die Farbe des Kegels veränderte sich zwischen einem gelblichen Rosa und einem Grau mit einem rötlichen Stiche.

W. Das freie Auge sah einen bläulichen, rückwärts grünlichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe weiß, wenig hell und enthielt 32 Punkte und 10 Gruppen zu 3 bis 8 Punkten. Δ_{max} 160. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren im ganzen Kegel 17 Punkte mit undeutlichen Kreisen zu sehen. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Punkte, die Kreise und die Gruppen verschwanden.

3. Hanföl. A. Das freie Auge sah einen roten Kegel; im Ultramikroskope war derselbe orangerot; die Zahl der feinen Punkte (10 im Quadrat) veränderte sich nicht. Die Farbe war jedoch nicht mehr weiß, sondern orangegelb. Außerdem verschwanden alle Punkte mit Kreisen und Punktegruppen. Beim Drehen des Analysators war der Kegel abwechselnd hellgelb und dunkelrot. Die Punkte verschwanden.

W. Das freie Auge sah einen gelben Kegel; im Ultramikroskope sah man nur einen gelblich schimmernden Kegel. In 18 Quadraten wurden nur 128 Punkte gefunden. Diese Verminderung läßt sich dadurch erklären, daß viele feine Punkte durch hellleuchtende Punkte mit 1 bis 3 Kreisen verdeckt wurden. Von diesen letzteren Punkten wurden in 18 Quadraten 40 gefunden; ihre Kreise waren zum Teil bunt und es kamen auch rote Kreise vor. Außerdem wurde im ganzen Kegel eine Gruppe mit 5 Punkten gefunden. Δ_{max} 360 ist der höchste Wert, der bei den Ölreaktionen mit Goldchlorid gefunden wurde. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren in 18 Quadraten 57 Punkte mit gelben oder orangegelben Kreisen zu sehen. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Kreise veränderten die Farbe und die feinen Punkte verschwanden.

4. Nußöl. A. Das freie Auge sah einen gelben Kegel; im Ultramikroskope war derselbe grünlichgelb. In 18 Quadraten fand man 126 Punkte, davon 27 mit Kreisen. Δ_{max} 160. Die Punkte waren nicht weiß, sondern gelb oder orangegelb. Auch nach dem Heben des Tubus um 20 μ fand man in 18 Quadraten 24 Punkte mit Kreisen. Beim Drehen des Analysators veränderte sich die Farbe des Kegels in Dunkelrot. Da das Öl an dem betreffenden Tage klar war, fand man keine Gruppen.

W. Makroskopisch zeigte sich dieselbe Veränderung, jedoch in erhöhtem Grade. Der ultramikroskopische Befund war aber weniger abweichend von dem ursprünglichen, da das Öl bei der Beobachtung getrübt war und deshalb die Reaktion durch große, weiße Gruppen von hellen Punkten verdeckt war, welche beim Drehen des Analysators die Farbe zwischen einer hellen gelblichweißen und einer dunkleren violettweißen Farbe veränderten. — Das freie Auge sah einen rosagefärbten Kegel mit gelbem Stich; im Ultramikroskope war der Kegel weiß. In 18 Quadraten wurden 87 orangegelbe oder gelbe Punkte gefunden, davon 5 mit 1 Kreise.

Δ_{max} 190. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden 23 Punkte mit Kreisen in 18 Quadraten gefunden. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel und wurde rot, die Farbe der Punkte und Kreise veränderte sich deutlich.

5. Mohnöl. A. Das freie Auge sieht einen weißen Kegel; im Ultramikroskope ist derselbe weiß, wenig intensiv. Gleich nach der Reaktion enthielt der ganze Kegel 170 Punkte, die Mehrzahl ohne Kreise. Nach 14 Tagen wurden nur 38 Punkte gefunden, davon 32 mit Kreisen. Die Zahl der Kreise stieg bei den Punkten von 5 auf 7 und deren Farbe wurde so bunt, daß alle Regenbogenfarben bei einem Punkte gefunden wurden. Die Farbe der Punkte, die nach der Reaktion orangegelb oder gelb war, war jetzt meistens weiß und wurde auch eine Gruppe von 6 weißen Punkten gefunden. Δ_{max} 200. Bei Drehen des Analysators wurde der Kegel ganz schwarz und die Kreise veränderten die Farbe.

W. Die Reaktion war schwächer als im Falle A, wie der Befund am ersten Tage zeigte. Einen noch größeren Unterschied konnte man nach 14 Tagen beobachten. — Das freie Auge sah einen weißen Kegel; derselbe war im Ultramikroskope blauweiß. Der Kegel enthielt zuerst 96 Punkte, deren Mehrzahl mit bis 4 Kreisen umgeben war; diese Zahl sank auf 62 und waren dann nur 20 Punkte mit Kreisen umgeben, dafür aber mit bis 5 sehr bunten, in allen Regenbogenfarben gefärbten Kreisen. Δ_{max} 326. Nach dem Heben des Tubus hatten 31 von den 62 Punkten Kreise. Beim Drehen des Analysators wurde der Kegel fast schwarz, die feinen Punkte verschwanden. Die Kreise veränderten auffallend die Farbe.

6. Japanisches Holzöl. A. Das freie Auge sah einen rosagefärbten Kegel; im Ultramikroskope war derselbe hellorangegelb gefärbt. In 18 Quadraten wurden 127 gelbe und orangegelbe Punkte gefunden, davon 2 mit je einem Kreise. Δ_{max} 64. Auch nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren in 18 Quadraten nur 4 Punkte mit einem unbestimmten Kreise zu sehen. Beim Drehen des Analysators veränderte sich die hellgelbe Farbe des Kegels in Dunkelorangegelb, die feinen Punkte verschwanden, die großen verblaßten, aber die Farbe veränderte sich nicht.

W. Das freie Auge sah einen weißen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe milchweiß. In 18 Quadraten wurden 36 orangegelbe Punkte gefunden, von denen 16 mit 1 oder 2 deutlichen Kreisen umgeben waren. Δ_{max} 308. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden 18 Punkte mit Kreisen in 18 Quadraten gefunden. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die feinen Punkte verschwanden, bei den hellen, sowie bei den Kreisen verblaßte die orangegelbe Farbe.

7. Olivenöl. A. Das freie Auge sah einen weißen Kegel mit einem schwachen roten Stich; im Ultramikroskope war derselbe dunkel, schwach rötlich gefärbt. In 18 Quadraten fand man nur 12 Punkte, davon 6 mit einem oder 2 Kreisen. Außerdem waren im ganzen Kegel 5 Gruppen zu 3 bis 7 Punkten. Δ durchschnittlich 60, Δ_{max} 268. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ fand man in 18 Quadraten 9 Punkte mit bis 4 Kreisen. Auffallend ist außer der kleinen Punktezahl und der Verminderung des durchschnittlichen Δ die geringe Färbung der Mehrzahl der Punkte selbst

beim Drehen des Analysators. Die Farbe des Kegels bewegte sich zwischen Grau und Dunkelrot.

W. Das freie Auge sah einen rosagefärbten Kegel mit Gelbstich; im Ultramikroskope war derselbe ziemlich dunkel, gelblich. In 18 Quadraten fand man 160 Punkte, davon 64 hellere, und unter diesen 33 mit 1 oder 2 undeutlichen Kreisen. Die Punkte waren auch weit außerhalb des Kegels zu sehen. Die Farbe der Punkte war orangegelb. Δ_{max} 124. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden in 18 Quadraten 30 Punkte mit Kreisen gefunden. Im Analysator erschienen die Punkte nur wenig bunter, beim Drehen desselben bewegte sich die Farbe des Kegels zwischen gelb und rot.

8. Arachisöl. A. Das freie Auge sah einen sehr schwachen, weißlichen Kegel: im Ultramikroskope war derselbe kaum deutlich, bläulich und enthielt 6 bis 11 Punkte, davon die Hälfte mit bis 2 deutlichen bunten Kreisen. Δ_{max} 220. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden nur 5 Punkte mit weniger bunten Kreisen gefunden. Beim Drehen des Analysators veränderte sich der Kegel nicht, die Punkte und die Kreise nur wenig.

W. Das freie Auge sah einen blassen, gelblichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe dunkel, bläulich. In 18 Quadraten waren 5 bunte Punkte zu sehen, davon 4 mit bis 5 Kreisen. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren 2 Punkte mit Kreisen umgeben. Δ_{max} 256. Beim Drehen des Analysators wurde der Kegel fast schwarz, die Farbe der Punkte und der Kreise veränderte sich.

9. Baumwollsamenöl. A und W. Der Befund wich von demjenigen vor der Reaktion nicht ab. Das freie Auge sah einen rosastichigen, nicht genau begrenzten Kegel: im Ultramikroskope war das ganze Sehfeld weiß, und dort, wo der Kegel zu sein pflegt, war es heller. Beim Drehen des Analysators wechselte ein rötlicher und ein orangegelber Stich ab.

10. Sesamöl. A. Untersuchte man das Öl bald nach der Reaktion, so sah das freie Auge einen roten Kegel: im Ultramikroskope war derselbe fast schwarz und enthielt 150 ziemlich bunte, zum Teil rote Punkte, die höchstens mit einem breiten Kreise umgeben waren. Δ 72. Nach 14 Tagen, als sich die blaue Farbe abgesetzt hatte und das Öl nur rot war, sah das freie Auge einen schwach rosagefärbten Kegel; im Ultramikroskope war derselbe dunkel und rötlich, und enthielt 25 gelbe oder orangegelbe Punkte, davon 14 mit Kreisen, Δ_{max} 174, und eine Gruppe von 7 Punkten. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren jetzt 15 mit Kreisen umgebene Punkte im Kegel sichtbar. Im Analysator sah man auch violette Punkte und Kreise, beim Drehen desselben verdunkelte sich der Kegel, die Farbe der Punkte und Kreise veränderte sich auffallend; im verdunkelten Kegel traten rotleuchtende Punkte hervor.

W. Das freie Auge sah bei der Prüfung des Öles gleich nach der Reaktion einen weißen Kegel; derselbe war im Ultramikroskope fast schwarz und enthielt 55 Gruppen von 2 bis 9 orangegelben Punkten, die teilweise mit Kreisen umgeben waren. Δ_{max} 124. Nach 14 Tagen, als sich die blaue Farbe absetzte und die ursprüngliche Färbung eintrat, sah das freie Auge einen blassen Kegel, derselbe war im Ultramikroskope grau und enthielt 7 Punkte ohne Kreise, 6 mit Kreisen, und 6 Gruppen von 3 bis 6 Punkten.

J_{max} 156. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren im ganzen Kegel 21 Punkte mit Kreisen zu sehen. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel nur wenig und die Punkte, die Kreise und die Gruppen veränderten nur wenig die Farbe.

11. Rapsöl. A. Das freie Auge sah einen rosagefärbten Kegel; derselbe war im Ultramikroskope fast schwarz. In 18 Quadraten waren 81 orangegelbe Punkte zu sehen, davon 40 mit 1 bis 2 Kreisen. J_{max} 124. Auch nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurde dieselbe Zahl von Punkten mit Kreisen gefunden. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Farbe der Punkte und Kreise bewegte sich zwischen Orangegelb und blassem Grün.

W. Das freie Auge sah einen weißen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe blaß, blaugrau und enthielt 166 orangegelbe Punkte, davon 137 mit 1 bis 2 bunten, auch violetten Kreisen. J_{max} 320. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden nur 94 Punkte mit Kreisen im ganzen Kegel gefunden. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel ein wenig, die Punkte und die Kreise veränderten ihre Farbe.

12. Rizinusöl. A. Das freie Auge sah einen schwach rosagefärbten, gelbstichigen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe orangegelb. In 18 Quadraten waren 98 Punkte enthalten, davon war die Mehrzahl gelb, 8 rot, die anderen blaß grünlich. Die Mehrzahl war mit 1 oder 2 unbestimmten verschwommenen gelben Kreisen umgeben; nach dem Heben des Tubus um 20 μ sind fast bei allen Punkten Kreise zu sehen. J_{max} 180. Beim Drehen des Analysators bewegte sich die Farbe des Kegels, der Punkte und der Kreise zwischen Rot und Grüngelb.

W. Das freie Auge sah einen gelbstichig rosagefärbten Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe gelb ins Orangegelbe. In 18 Quadraten fand man 52 orangegelbe oder rote Punkte mit 3 deutlichen Kreisen. J_{max} 200. Beim Drehen des Analysators bewegte sich die Farbe der Kreise zwischen Rot und Gelbgrün und der Kegel wurde fast schwarz und zeigte nur kleine Unterschiede zwischen einem schwachen roten und einem gelben Scheine.

13. Pferdeöl. A. Das freie Auge sah einen gelblichen Kegel; derselbe war im Ultramikroskope kaum sichtbar und enthielt 63 weiße Punkte; davon waren 51 mit 1 bis 3 bunten Kreisen umgeben. J_{max} 250. Auch nach dem Heben des Tubus befanden sich 65 Punkte mit Kreisen im Kegel. Wurde auf die mit Kreisen umgebenen Punkte scharf eingestellt, so zeigten sich an derselben Stelle 2 bis 3 Punkte beisammen. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Farbenveränderung war nur bei jenen Kreisen so deutlich, welche durch Punktegruppen gebildet wurden.

W. Das freie Auge sah einen rosagefärbten Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe, wenn man seine engste Stelle nahe dem Quarzfensterchen entstehen ließ, gelb, wenn dies im rückwärtigen Teile der Küvette geschah, rosa. Gleich nach der Reaktion wurden im Kegel 70 Punkte mit 4 Kreisen gefunden, J_{max} 240, nach 14 Tagen nur 6 Punkte ohne Kreise, 7 mit 1 bis 3 Kreisen und 7 Gruppen mit 3 bis 5 Punkten; J_{max} 140. Beim Drehen des Analysators bewegte sich die Farbe zwischen Gelbweiß

und dunklem Rot. Die Punkte veränderten gleich nach der Reaktion die Farbe, später nur unbedeutend.

14. Elaïn-Destillat. A. Das freie Auge sah einen vorne blauen, rückwärts grünlichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe blaugrau und enthielt 66 orangegelbe Punkte, von welchen 52 (nach dem Heben des Tubus um 20 μ 42) mit 1 bis 3 Kreisen umgeben waren. Δ_{max} 160. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Farbe der Punkte und der Kreise veränderte sich auffallend.

W. Das freie Auge sah einen vorne blauen, rückwärts grünen Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe bläulichgrau und enthielt 47 meistens mit Kreisen umgebene, orangegelbe Punkte. Δ_{max} 248. Beim Drehen des Analysators wurde der Kegel dunkler, bei den Kreisen wechselte die rote und die grüne Farbe ab.

15. Elaïn-Saponifikat. A. Das freie Auge sah bei einer intensiven Beobachtung einen roten, bei einer schwächeren einen rosagefärbten Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe blaß, bläulich grün und enthielt 122 Punkte, davon 34 (nach dem Heben des Tubus um 20 μ 16) mit 1 bis 3 Kreisen. Δ_{max} 130. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Punkte und die Kreise veränderten ein wenig die Farbe.

W. Das freie Auge sah einen vorne blauen, rückwärts grünen Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe grau, und enthielt 22 Punkte, von welchen 7 mit 1 bis 4 bunten Kreisen umgeben waren. Außerdem wurde 1 Gruppe von 6 Punkten gefunden. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden 27 Punkte mit Kreisen gefunden. Δ_{max} 200. Beim Drehen des Analysators veränderte sich der Kegel fast gar nicht, die Farbe der Punkte und der Kreise veränderte sich auffallend.

16. Lebertran. A. Das freie Auge sah einen vorne weißen, rückwärts rosagefärbten Kegel; im Ultramikroskope war derselbe hellrosa gefärbt und enthielt 59 Punkte und Gruppen zusammen. Einzelne Punkte sind nur selten, die Gruppen enthalten 4 bis 32 Punkte. Beim Heben des Tubus um 20 μ umgeben sich die Gruppen nur mit 1 unbestimmten Kreise, der bald verschwindet und die Farbe des Kegels besitzt. Δ_{max} 84. Rotleuchtende Punkte kommen nicht vor. Beim Drehen des Analysators verändert sich die Intensität des Kegels und der Punkte, dagegen nicht die Farbe. — Nach 14 Tagen, als sich eine große Menge eines roten Belages an der Wand ausgeschieden hatte, war der Kegel nur noch grau und enthielt 17 einzelne Punkte und 13 Gruppen zu 3 bis 40 Punkten. Δ_{max} 144. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden 16 mit verschwommenen Kreisen umgebene Punkte gefunden. Beim Drehen des Analysators verdunkelten sich sowohl der Kegel als auch die Punkte. Der genannte rote Fettniederschlag schmolz nicht beim Erwärmen und löste sich in der Hitze nur sehr langsam.

W. Das freie Auge sah einen weißen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe schwarzgrau und enthielt 47 Punkte und 3 Gruppen von 5 bis 11 Punkten. Von den Punkten waren 36 (nach dem Heben des Tubus um 20 μ 22) mit bis 5 bunten Kreisen umgeben. Δ_{max} 314. Beim Drehen des Analysators wurde der Kegel fast schwarz; die Farbe der Punkte und der Ringe veränderte sich auffallend.

17. Dreikronentran. A. Das freie Auge sah einen vorne weißen, rückwärts orangegelben Kegel: im Ultramikroskope war derselbe lichtorangegelb. Gleich nach der Reaktion wurden im ganzen Kegel zusammen 80 Punkte und Gruppen gefunden. Die Gruppen zählten 3 bis 5 Punkte. Nach 14 Tagen war der Kegel im Ultramikroskope nur grau mit rosa Stich und zählte nur 4 rote oder orangegelbe Punkte und 1 oder 2 Gruppen zu 9 bis 24 roten Punkten; von den Punkten waren 3 (nach dem Heben des Tubus um 20 μ 1) mit 1 oder 2 Kreisen umgeben. $\varDelta_{max}$ 114. Charakteristisch ist, daß beim Drehen des Analysators die Farben nicht bunter wurden und sich nicht veränderten, sondern rot blieben; es trat nur eine Verdunkelung des Kegels, der Punkte und der Gruppen ein.

W. Der Befund war derselbe wie bei A, nur wurden gleich nach der Reaktion 28 Punkte und Gruppen zu 2 bis 3 Punkten im Kegel gefunden, nach 14 Tagen nur 4 Punkte, davon einer mit 1 Kreise (nach dem Heben des Tubus um 20 μ 4 mit Kreisen), außerdem ausnahmsweise eine Gruppe von 33 Punkten. $\varDelta_{max}$ 128.

18. Walratöl. A. Das freie Auge sah einen orangegelben Kegel; ein ebensolcher war auch im Ultramikroskope zu sehen. In 18 Quadraten wurden 70 orangegelbe Punkte ohne Kreise gefunden; diese Zahl ist jedoch nicht ganz verläßlich, denn die Punkte waren meistens so klein, daß sie in den Quadraten nur schwer zu unterscheiden waren. Infolge der Feinheit gaben die Punkte beim Heben des Tubus nur ausnahmsweise Kreise. $\varDelta_{max}$ 42. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden in 18 Quadraten nur 2 Punkte mit Kreisen gefunden. Beim Drehen des Analysators schwankte die Farbe des Kegels zwischen einer gelb- und einer rotstichigen; die Punkte verschwanden bis auf 4 in 18 Quadraten und diese 4 veränderten dann die Farbe wie der Kegel.

W. Das freie Auge sah einen orangegelben Kegel: im Ultramikroskope war derselbe gelb. In 18 Quadraten wurden 146 Punkte gefunden, jedoch waren auch hier die Punkte so fein, daß sie zwischen den Quadraten nicht genau zählbar waren. 9 von ihnen waren mit einem unbestimmten Kreise umgeben (nach dem Heben des Tubus um 20 μ 11); $\varDelta_{max}$ 140. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Tubus, die feinen Punkte verschwanden, die mit den Kreisen sich umgebenden wurden etwas bunter. — Die feinen Punkte bei den beiden letzten Versuchen rühren von dem durch Abkühlung sich ausscheidenden Fette her.

19. Gelbes Mineralöl. A. Der Befund stimmte mit demjenigen vor der Reaktion überein.

W. Das freie Auge sah einen vorne blauen, rückwärts grüngelben Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe lichtgrau, das übrige Sehfeld grau. In 18 Quadraten waren 172 weiße, wenig helle Punkte zu sehen, welche nicht mit Kreisen umgeben waren und von denen nach dem Heben des Tubus um 20 μ 5 mit Kreisen umgeben waren. $\varDelta_{max}$ 54. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel vollkommen, alle Punkte und Kreise verschwanden. — Wurde das Öl erwärmt und der Niederschlag aufgelöst, war der Befund derselbe wie vor der Reaktion und es wurden nur ausnahmsweise 3 bis 8 Punkte im ganzen Kegel, davon höchstens einer mit einem Kreise gefunden.

20. Paraffinöl. A. Das freie Auge sah einen blauen Kegel; derselbe war im Ultramikroskope bläulichweiß und enthielt 19 sehr verschieden lichte Punkte mit bis 4 auffallend, auch blau- und violettgefärbten Kreisen, außerdem eine Gruppe von 20 Punkten. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel und die Kreise veränderten die Farbe. Nach 14 Tagen war der Kegel noch blau und undeutlich, und enthielt 12 Punkte, davon 8 mit höchstens 3 Kreisen, J_{max} 106, außerdem eine Gruppe von 4 Punkten; beim Drehen des Analysators verschwanden sowohl die Punkte als auch die Kreise.

W. Das freie Auge sah einen blauen, wenig deutlichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe bläulichweiß und enthielt 111 Punkte mit höchstens 2 Kreisen und seltene Gruppen zu 3 bis 4 Punkten. Unter den Punkten kamen zahlreich blaue vor. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Punkte und die Kreise verschwanden. — Nachdem sich mit der Zeit die Fetttrübung in Form von Häutchen an der Wand und auf dem Tropfen der wässerigen Goldlösung ausgeschieden hatte, war der Kegel nur noch dunkelblau und enthielt 43 Punkte, davon 36 mit bis 5 Kreisen und eine Gruppe von 6 Punkten. Die Kreise waren auffallend bunt, vorherrschend violett; schwach vertreten war Rot. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden im Kegel 18 Punkte mit Kreisen gefunden. Wurde auf die mit Kreisen umgebenen Zentren scharf eingestellt, so zeigten sich Punktegruppen. J_{max} 236. Auch hier verschwanden beim Drehen des Analysators die feinen Punkte; die hellen, besonders diejenigen in den Gruppen, verblaßten nur. —

Die in den vorangehenden Befunden beschriebenen Beobachtungen können entweder als Resultate der Reaktion mit Goldchlorid oder als Folgen einer, von dem Charakter des Öles abhängenden Fettausscheidung erklärt werden. Bei dem Mineral- und Paraffinöle wurde durch das wässerige Reagens die Bildung von Fettkörpern unterstützt, die sich als eine Trübung oder als ein Niederschlag oder als eine Haut ausschieden. Eine solche Fettausscheidung zeigte sich im Ultramikroskope ebenso wie vor der Reaktion entweder in der Form von Gruppen von hellleuchtenden Punkten, deren Farbe sich zwischen violettweiß und gelblichweiß bewegte (siehe z. B. Nußöl W), oder in Form von Punkten mit Kreisen, die im Analysator die Farbe veränderten (siehe z. B. Rapsöl A), oder in Form von Punkten ohne Kreise (siehe z. B. japanisches Holzöl A und Walratöl W). Beim Ausscheiden des Fettes kann auch der Fettfarbstoff mitgerissen werden, so daß das Öl mehr oder weniger entfärbt wird (siehe Leinölfirnis W).

Was die eigentliche Reaktion betrifft, so wurde das Gold auf dreifache Weise ausgeschieden. Entweder blieb es amikroskopisch und färbte rot, oder es wurde submikroskopisch ausgeschieden; in diesem Falle verlieh es den Ölen entweder eine blaue Farbe oder es bildete

einen Goldschimmer im Öle. In den beiden letzten Fällen scheidet sich das anfangs verteilte Gold leicht aus, und zwar als ein blauschwarzer Niederschlag, resp. als ein goldglänzender Belag an der Wand. Die Entscheidung, welche von den beobachteten Punkten submikroskopischen Teilchen, und welche mikroskopischen Teilchen entsprechen, stößt wider Erwarten auf große Hindernisse bei der mikroskopischen Untersuchung, weil sich bei der Untersuchung des Öles in dünner Schicht die Teilchen auf einer Seite sammelten, so daß ihre Anzahl nur dann bestimmbar wäre, wenn alle in einem Tropfen vorkommenden gezählt und auf die Einheit umgerechnet werden könnten. Zählt man sie auf die gewöhnliche Weise, so findet man an einer Stelle deren mehr, als man im Ultramikroskope Punkte und Gruppen im ganzen gefunden hat, an einer anderen Stelle weniger als man Gruppen und mit Kreisen umgebene Punkte gesehen hat. So viel geht aber aus den mikroskopischen Beobachtungen hervor, daß in denjenigen Fällen, wo im Ultramikroskope Punkte mit Kreisen gesehen wurden, im Mikroskope auch schwarze Punkte zu sehen waren, dagegen scheinen die feinen Punkte ohne Kreise eher submikroskopischen Teilchen zu gehören.

Die rote Färbung, oder der Eintritt einer roten Komponente in die Farbe, wurde überhaupt bei dem Leinölfirnisse A, dem Hanföle A, dem Nußöle A und W, dem japanischen Holzöle A, dem Olivenöle A und W, dem Baumwollsamenöle W, dem Sesamöle A, dem Pferdeöle W, dem Lebertran A und dem Walratöle A gefunden. Diese Färbung wurde begleitet durch eine entsprechende Rotfärbung des mit dem freien Auge betrachteten Kegels und durch eine ebensolche Färbung des Kegels im Ultramikroskope. Diese letztere verschwand nicht beim Drehen des Analysators, so daß die Farbe des Kegels bei allen Ölen sich beim Drehen des Analysators in eine, wenn auch sehr dunkle und schwache Rotfärbung verwandelte. Nirgends konnte konstatiert werden, daß mit dem Eintritte der roten Färbung oder eines roten Stiches bei der Reaktion sich irgendwelche besondere charakteristische Punkte oder Punktegruppen gezeigt hätten, und wo in den eben angeführten Ölen Punkte und Gruppen zu sehen waren, konnten dieselben immer mit einer andern Ursache z. B. mit der gleichzeitigen Blaufärbung, mit dem Goldschimmer oder mit der Fettausscheidung in Zusammenhang gebracht werden.

Die genannten drei Merkmale traten bei dem Leinölfirnisse A, dem Hanföle A, dem Olivenöle A, dem Baumwollsamenöle W, dem Lebertran A und dem Walratöle A alle deutlich hervor. Beim Hanf-

öle A waren die ursprünglich weißen Punkte infolge der Bestrahlung mit dem durch das rote Öl kommenden Lichte orangerot. Ebenso wurden auch bei Lebertran A die der Fettausscheidung entsprechenden Punktegruppen mit einem roten Lichte beleuchtet, und es bewährte sich nicht die Vermutung, daß in dem Niederschlage auch die rote Farbe niedergeschlagen sein wird, und daß es noch eine andere, als amikroskopische rote Farbe geben wird. Auch bei dem Walratöle, wo beim Stehen eine durch Wärme verschwindende Trübung eintrat, waren die feinen Punkte durch das, die rotgefärbte Ölschicht passierende Licht, orangegelb gefärbt. — Beim Olivenöle W war die rote Farbe des Kegels durch die dem Goldschimmer entsprechenden gelbleuchtenden Punkte verdeckt, und zwar sowohl bei der Betrachtung mit freiem Auge, als auch im Ultramikroskope; man konnte jedoch mit dem freien Auge sehen, wie sich in die Glaswand der Küvette hinter dem Kegel rosa Licht ausbreitet, und auch beim Drehen des Analysators bewegte sich die Farbe zwischen gelb und rot. Beim Nußöle A konnte weder bei der Betrachtung mit dem freien Auge, noch im Ultramikroskope die rote Farbe gesehen werden, und zwar deshalb, weil die zahlreichen, dem ausgeschiedenen Fette angehörenden Punkte und Gruppen ein sehr helles, weißes Licht ausbreiteten; dafür konnte aber wieder beim Drehen des Analysators die rote Farbe entdeckt werden. Beim Nußöle W und dem japanischen Holzöle A, war aus demselben Grunde die rote Farbe im Ultramikroskope erst beim Drehen des Analysators sichtbar, sie trat jedoch auch beim Beobachten mit freiem Auge hervor. Beim Pferdeöle W war die rote Farbe im Ultramikroskope nur dann sichtbar, wenn auf eine tiefere, d. i. vom Quarzfensterchen entferntere Stelle, eingestellt wurde. Beim Sesamöle A war es unmöglich, sicher zu stellen, ob der Kegel beim Drehen des Analysators rötlich gefärbt bleibt, weil der Kegel selbst bei der größten Verdunkelung noch ziemlich hell war und darin rotleuchtende, der Blaufärbung des Öles zugehörende Punkte hervorragten.

Die Blaufärbung oder der Zutritt der blauen Komponente zur Farbe des Öles wurde bei dem Mohnöle A und W, bei dem Rizinusöle A und W, bei dem Leinöle A und W und bei den Elaïnen A und W konstatiert. Bei dem Dreikronentrane A wurde ein geringer blauer Satz gefunden, eine Veränderung der dunkeln Farbe war nicht sichtbar.

Die Blaufärbung wurde mit folgenden Erscheinungen begleitet: Es zeigten sich gelbe, orangegelbe, zum großen Teile aber auch

rote Punkte, welche entweder schon bei der schärfsten Einstellung auf den Kegel mit bis 7 gelben, rötlichen oder grünlichen Kreisen umgeben waren oder sich beim Heben des Tubus durch die feine Einstellvorrichtung, mit solchen umgaben. $\varDelta$ und $\varPhi$ waren sehr groß. Beim Drehen des Analysators veränderte sich die Farbe der Punkte und der Kreise zwischen rot und blaßgrün, die Lichtintensität veränderte sich jedoch nur unbedeutend. Punktegruppen waren manchmal in größerer Anzahl vorhanden. Bei allen Ölen außer dem Rizinusöle verschwand wieder die blaue Farbe und es setzte sich ein pulveriger blauschwarzer Niederschlag ab. Dieser Veränderung entsprach die Bildung von Gruppen mit einer immer größeren Punktezahl und die Zunahme von $\varDelta$ und $\varPhi$. Aus dem was durch das Absetzen der Farbe im ultramikroskopischen Bilde verschwand, ist am besten zu sehen, was die blaue Färbung verursacht hat, und zwar um so deutlicher, je blauer die Farbe nach der Reaktion war; am deutlichsten also bei dem Mohn- und dem Sesamöle. Eine stärkere Blaufärbung war gewöhnlich durch eine größere Anzahl von Punkten mit Kreisen, durch eine verhältnismäßige Anzahl von roten und orangegelben Punkten, durch größeres $\varDelta$ und $\varPhi$, durch eine größere Buntheit der Ringe bei der Betrachtung mit dem Analysator und auch ohne ihn, und endlich durch eine auffallendere Veränderung der Farbe der Punkte und der Ringe, beim Drehen des Analysators ausgezeichnet. Die Buntheit der Ringe konnte am besten an dem Auffallen der roten Farbe gemessen werden. — Wenn bei einem blaueren Öle eine geringere Anzahl von Punkten gefunden wurde als bei einem weniger blauen (z. B. beim Leinöl W mehr als bei A), so war diese Abnahme des einen Merkmals hinreichend durch höhere Stufen der anderen Merkmale ausgewogen. Daß manchmal, je schwächer die Blaufärbung war, desto größeres $\varDelta$ und $\varPhi$ und eine um so größere Anzahl von mit Kreisen umgebenen Punkten gefunden wurde, läßt sich dadurch erklären, daß das Gold schon nahe der gänzlichen Ausscheidung und deshalb auch in Form von schweren, mehr Punkte zählenden Gruppen gesammelt war. Deshalb war auch die Bildung von Kreisen bei den Punkten nach 14 Tagen auffallender, als gleich nach der Reaktion und deshalb wurden auch bei der Blaufärbung manchmal Gruppen gefunden, manchmal nicht. Das Vorkommen von größeren Gruppen weist auf eine größere Geschwindigkeit im Absetzen und einen baldigen Eintritt der vollkommenen Ausscheidung hin.

Das ursprünglich gelblichweiße Arachisöl entfärbte sich in beiden

Fällen gänzlich. Diese Veränderung ist mit einer Veränderung von ultramikroskopischen Erscheinungen begleitet, welche für die Blaufärbung charakteristisch sind; daraus ist zu sehen, daß die Blaufärbung durch sehr auffallende ultramikroskopische Merkmale ausgezeichnet ist und daß eine geringe, ultramikroskopisch schon nachweisbare Ausscheidung der blaufärbenden Teilchen mit dem freien Auge noch nicht sichtbar ist.

Der Goldschimmer war deutlich bei dem Hanföle W, bei dem japanischen Holzöle A, bei dem Olivenöle A, bei dem Rapsöle A, bei dem Rizinusöle W und am auffallendsten bei dem Walratöle W. Bei allen diesen Ölen wurde eine wenn auch schwache Blaufärbung beobachtet, am deutlichsten bei dem japanischen Holzöle, dann in Form eines Blaustiches bei dem Olivenöle, in Form einer grauen Farbe bei dem Rizinusöle, als ein Umschlag in gelbgrün bei dem Rapsöle und als eine Verdunkelung der Farbe bei dem Hanf- und Walratöle. Bei dem Olivenöle und dem japanischen Holzöle war auch eine ziemlich starke Rotfärbung zu sehen. Der Goldschimmer wurde begleitet durch eine sowohl beim Betrachten mit dem freien Auge als auch im Ultramikroskope sichtbare starke gelbe Färbung des Kegels und durch das Auftreten von großen, deutlichen, gelben, mit 1 bis 3 schwachen, gelben Kreisen umgebenen Punkten. Beim Drehen des Analysators verlor sich die gelbe Farbe des Kegels; die genannten hellen Punkte verschwanden nicht und veränderten die Farbe entweder gar nicht oder nicht auffallend. Von diesen Merkmalen wurden diejenigen, welche die Punkte, die Kreise, sowie deren Verhalten beim Drehen des Analysators betreffen, leicht durch solche Erscheinungen verdeckt, welche für andere Reaktionsformen charakteristisch sind, u. zw. schon bei einem sehr geringen Grade dieser anderen Formen. Deshalb veränderten sich z. B. beim Hanföle die Farben beim Drehen des Analysators, und bei dem Rizinusöle, wo der Goldschimmer am schwächsten war, war der Befund überhaupt für die Blaufärbung charakteristisch.

Der Umstand, daß mit dem Goldschimmer immer eine Blaufärbung, nie aber ein blauschwarzer Niederschlag verbunden war, läßt sich so erklären, daß sich die blauen Teilchen mit den goldschimmernden zusammen absetzten und daß in dem metallglänzenden Wand- und Bodenbelage der blauschwarze Niederschlag eingeschlossen war. Es ist nicht anzunehmen, daß sich die blauen Teilchen in die gelben umwandelten, weil selbst die hellsten, den Goldschimmer bildenden Punkte nach den maximalen Δ und Φ

nicht gröber zu sein scheinen als die der Blaufärbung entsprechenden Punkte.

Zu den angeführten Resultaten ist zuzufügen, daß es vorläufig ohne eine Heizküvette nicht gut möglich war, das Verhalten von Staub und anderen Verunreinigungen der Öle neben den Fettteilchen zu verfolgen. Als dem Staube entsprechend können im Olivenöle die Punkte angesehen werden, welche im Analysator die rote und die grüne Farbe vertauschten. Es war ein älteres Muster, in welches beim oftmaligen Öffnen der Flasche der Staub gelangte; die anderen Muster waren frisch. Die genannten Punkte zeigten keinen Einfluß auf die Reaktion und setzten sich wahrscheinlich gleich am Anfange mit dem ersten grob ausgeschiedenen Golde zum Boden. Beim Olivenöle verschwanden die mit bis 6 Ringen umgebenen Punkte und das J_{max} sank (bei A stieg dasselbe, weil sich Gruppen bildeten).

Der Einfluß der Umstände auf die Reaktion von fetten Ölen mit Goldchlorid.

Bei den im vorhergehenden beschriebenen Versuchen war der große Einfluß des Lösungsmittels des Goldchlorids auf den Verlauf und das Resultat der Reaktion deutlich. Zur Sicherstellung der Einflüsse anderer Umstände wurde das Olivenöl gewählt, und zwar deshalb, weil bei demselben alle drei Formen der Reaktion, d. i. die Rotfärbung, die Blaufärbung und der Goldschimmer zugleich auftreten. Die ultramikroskopischen Bilder enthielten nichts Neues, und die am Schlusse der vorigen Versuchsreihe zusammengefaßten Resultate gelten auch hier. Interessant war jedoch der Zusammenhang zwischen der eingetretenen Reaktionsform und den Umständen, unter welchen die Reaktion ausgeführt wurde, das ist: der Temperatur, der Erhitzungsdauer, der Bewegung und der Verdünnung mit Äther. Dagegen ergaben alle Beobachtungen, die zu dem Zwecke ausgeführt wurden, um den Einfluß des Lichtes zu ermitteln, bei Gold nur negative Resultate und es zeigte sich, daß das Licht eine Ölfärbung und Reaktion nicht hervorrufen kann.

Zu 1 g Olivenöl wurde zugesetzt: 1) 0·05 cm^3 einer alkoholischen Goldchloridlösung (6 g per l) und es wurde eine Stunde ohne zu schütteln im Wasserbade so erhitzt, daß das Proberöhrchen durch die Stöße des siedenden Wassers nicht erschüttert wurde. 2) Mit

dem gleichen Zusatze wurde eine Stunde ebenfalls im Wasserbade erhitzt und das Proberöhrchen beständig geschüttelt. 3) u. 4) Es wurden die beiden beschriebenen Versuche mit dem wässerigen Reagens wiederholt. 5) Es wurde nach dem Zusatze von 0·05 cm³ der alkoholischen Goldchloridlösung und 1 cm³ Äther eine Stunde im Wasserbade auf 50° C. ohne zu schütteln erwärmt. Bei den letzten zwei Versuchen sollte der Äther während der Zeit bis zu seiner Verflüchtigung in den Ölen eine Art Umrührung hervorrufen.

Die rote Farbe entwickelte sich am meisten bei einem längeren Erwärmen mit einer alkoholischen Goldchloridlösung, und zwar sowohl beim Umschütteln, als auch ohne dasselbe. Geringer war die rote Färbung bei dem wässerigen Reagens und am geringsten bei den nur auf 50° erwärmten Ölen. Diese waren direkt nach den Erwärmen farblos und erst nach dem Stehen über die Nacht zeigte sich eine blasse Rosafärbung, und zwar bei dem nichtgeschüttelten Öle eine stärkere als bei dem geschüttelten. Auch diese Reihe von Versuchen zeigte, daß die rote Färbung mit keinen mikroskopischen oder submikroskopischen Teilchen im Zusammenhange ist, denn alle beobachteten Punkte konnten entweder durch die zugleich eintretende Blaufärbung oder den Goldschimmer erklärt werden, und besonders hat darauf das mit der alkoholischen Goldchloridlösung ohne Umschütteln erwärmte Öl, welches sehr wenig Punkte überhaupt (12 in 18 Quadraten) und keine feinen enthielt, hingewiesen.

Die blaue Färbung trat besonders bei dem mit dem wässerigen Reagens geschüttelten Öle hervor, weniger bei dem mit der alkoholischen Lösung geschüttelten, noch weniger bei dem mit Äther versetzten und geschüttelten. Eine viel schwächere Blaufärbung fand man bei dem mit dem wässerigen Reagens ohne Schütteln erwärmten, noch schwächer bei dem unter Zusatz von Äther ohne Umschütteln erwärmten und die schwächste Blaufärbung trat bei dem mit der alkoholischen Goldchloridlösung ohne Schütteln erwärmten Öle ein.

Rücksichtlich des ultramikroskopischen Befundes ist zu bemerken, das die blaue Farbe mit der Zahl der Punkte überhaupt, mit der Zahl der mit Kreisen umgebenen hellen Punkte und der Zahl der Gruppen zunahm. Bei dem mit dem wässerigen Reagens geschüttelten Öle wurden in 18 Quadraten 222 Punkte gefunden, davon 110 stark leuchtende und von diesen 37 mit Kreisen umgebene; das hier sichergestellte J_{max} 106 ist die kleinste für diesen Wert bei Olivenöl gefundene Zahl. Das am schwächsten blaugefärbte mit

der alkoholischen Lösung geschüttelte Öl zeigte in 18 Quadraten nur 12 Punkte, u. zw. durchgängig helle, davon 6 mit Kreisen. Das hier gefundene J_{max} 268 ist die für diesen Wert bei Olivenöl gefundene höchste Zahl. Als die Öle nach der zunehmenden Blaufärbung zusammengestellt wurden und die Anzahl der Punkte überhaupt, diejenige der hellen Punkte und die der kaum sichtbaren, mit der Färbung verglichen wurde, so wurde allerdings gefunden, daß diese Zahlen nicht genau mit der Blaufärbung steigen; dies läßt sich aber dadurch erklären, daß unter den hellen Punkten auch solche, welche den Goldschimmer bilden, gezählt wurden und unter den feinen auch solche, welche den sich ausscheidenden Fettteilchen gehören. Endlich sei bemerkt, daß neben den hellleuchtenden Punkten die feinen in der Nähe liegenden wenig leuchtenden Punkte dem Auge entgangen sind.

Der größte Goldschimmer kam bei denjenigen Ölen vor, welche mit der wässerigen Goldchloridlösung ohne Schütteln erwärmt wurden, dann bei denjenigen, welche mit derselben Lösung geschüttelt wurden. Der starke Goldschimmer wurde von einer entsprechenden Undurchsichtigkeit begleitet. Ein schwächerer Schimmer kam bei den nur auf 50° erwärmten (mit Äther verdünnten Ölen) vor; hier entstand jedoch mit der Zeit am Boden ein pulveriger goldglänzender Niederschlag. Bei den mit der alkoholischen Goldchloridlösung erwärmten Ölen trat weder der Goldschimmer noch eine Verminderung der Durchsichtigkeit ein. Aus den ultramikroskopischen Befunden ist hier hervorzuheben, daß in Übereinstimmung mit der vorigen Versuchsreihe die am meisten goldschimmernden, das sind die ohne Schütteln mit der wässerigen Goldchloridlösung erwärmten Öle, eine große Anzahl hellleuchtender Punkte (bis 96 in 18 Quadraten) gezeigt haben, welche im Analysator die Farbe meistens nur wenig veränderten und beim Heben des Tubus keine Ringe bildeten; als dann nach dem Heben um 20 μ die genannten Punkte nur undeutlich zu sehen waren, traten die sich um die roten und orangegelben Punkte bildenden und auf die Blaufärbung deutenden Kreise hervor, und beim Drehen des Analysators war das Schwanken der Ringe zwischen der roten und blaßgrünen Farbe viel besser zu sehen. Es war auch die gelbe Färbung des Kegels durch die goldschimmernden Teilchen und das Verdecken der roten Farbe des Kegels durch die gelbe sehr schön zu sehen, u. zw. sowohl bei der Betrachtung mit dem freien Auge als auch im Ultramikroskope. Die letzte Erscheinung zeigte besonders ein Öl, bei welchem die

Reaktion vor 4 Monaten ausgeführt wurde; der Kegel leuchtete im Ultramikroskope mit einem schönen, gelbgrünen Lichte.

Zu der eben beschriebenen Versuchsreihe ist noch folgendes zuzufügen: Der Unterschied zwischen der Färbung nach dem Erhitzen auf 50° und 100° und das Nichtfärben bei gewöhnlicher Temperatur selbst im Lichte zeigt, daß wir ohne eine größere Temperaturerhöhung keine von den drei Formen der Reaktion im höheren Grade erreichen können. Als sehr günstig für die Reaktion zeigte sich das Schütteln, denn selbst beim Erhitzen mit dem wässerigen Reagens trat in 5 Minuten eine blauviolette Färbung ein und schon nach einer Viertelstunde konnte der Anfang des Goldschimmers im reflektierten Lichte konstatiert werden, wogegen ohne das Schütteln selbst nach einer Stunde die Farbe nur rosarot war. — Der oben erwähnte Zusatz von Äther sollte beim Erwärmen im lauwarmen Wasser am Anfange eine Strömung des Öles hervorrufen, welche die Berührung der beiden einwirkenden Körper, d. i. des Öles und des Goldchlorids, unterstützen sollte. Daraus, daß hier die Öle gleich nach der Reaktion noch ungefärbt waren, geht hervor, daß hier die niedrige Temperatur entscheidend war und daß bei derselben weder das Schütteln noch die genannte Strömung nichts nützte. — Sehr vorteilhaft ist die Verwendung der alkoholischen Goldchloridlösung. Selbst wenn man nicht schüttelt, tritt bald eine deutliche Färbung ein, woraus man ersieht, daß sich das Reagens mit der Mehrzahl der Öle gut mischt; der vollkommenen Verteilung ist zuzuschreiben, daß bei der alkoholischen Goldchloridlösung die schönsten roten Farben vorkamen, dagegen die blaue Farbe, welche in der Fällung von mikroskopischen und submikroskopischen Teilchen ihren Ursprung hat, nur im geringen Maße und der Goldschimmer überhaupt nicht vorkam.

Endlich ist zu bemerken, daß auch die Ölmenge einen großen Einfluß auf die Reaktion hatte. Beim Ausführen der Reaktion im großen gelang es nie, unter den bei 1 g ausprobierten Bedingungen eine Rotfärbung zu bekommen, es trat immer eine blaue Trübung oder ein blauer Niederschlag oder die plötzliche Ausscheidung eines goldglänzenden Belages am Boden und an den Wänden ein.

Reaktionen von Fettölgemischen mit Goldchlorid.

Weil es sich bei der Ölanalyse für den Handel und die Industrie auch um die Prüfung von Ölgemischen, z. B. von mit fremden Ölen verfälschten Ölen, handeln wird, so war es notwendig, wenigstens nur teilweise den Einfluß des Mischens auf die Reaktion und ihre drei Hauptformen: die Rot-, die Blaufärbung und den Goldschimmer, durchzuprüfen. Es wurden deshalb solche Öle ausgesucht, bei welchen die Goldreaktion charakteristisch hervortritt und es wurden die Gemische von je 1 g Öl eine Stunde im siedenden Wasserbade mit 0·1 cm^3 der alkoholischen Goldchloridlösung (6 g per l) ohne Schütteln erwärmt.

2 + 5. Das Gemisch des Leinölfirnisses, der sich durch eine starke, dem Rubinglase entsprechende Rotfärbung auszeichnete, und des Mohnöles, bei dem eine besonders starke Blaufärbung und eine schnelle Ausscheidung des blauschwarzen Niederschlages hervortrat, gab eine dunkelrubinrote Färbung und nur Spuren eines blauen und violetten Niederschlages.

2 + 14. Das Gemisch des Leinölfirnisses mit dem Elaïn-Destillate, das sich allein nur sehr schwach grünlich färbte, gab keine rote Färbung mehr, sondern einen reichlichen blauen Niederschlag.

2 + 20. Das Gemisch des Leinölfirnisses mit dem Paraffinöle, bei dem die Reaktion makroskopisch überhaupt nicht sichtbar war, färbte sich dunkelorangegelb, trübte sich, und schied an der Wand bei der Oberfläche einen geringen violetten und schwarzen Niederschlag aus.

3 + 5. Das Gemisch des Hanföles, welches eine Rotfärbung, jedoch eine blauere als das Rubinglas zeigte, und des Mohnöles gab keine Rotfärbung, sondern eine schnell sich setzende, grünliche, im reflektierten Lichte hellbraune Färbung.

3 + 10. Das Gemisch des Hanföles mit dem Sesamöle, welches außer dem blauen Niederschlage noch eine Blaufärbung gab, zeigte nur eine grüne Färbung durch einen sich langsam an die Wand ausscheidenden Niederschlag.

4 + 7. Das Gemisch des Nußöles, welches sich schwach rosa färbte und lichtvioletten Niederschlag bildete, mit dem Olivenöle, welches allein eine rote Färbung und einen blauschwarzen Niederschlag gab, zeigte eine starke rubinrote Färbung ohne jeden Niederschlag.

4 + 8. Das Gemisch des Nußöles mit dem Arachisöle, bei welchem fast gar keine Reaktion eintrat, gab eine stärkere Rosafärbung und einen reichlicheren dunkler violetten Niederschlag als das Nußöl allein.

5 + 6. Das Gemisch des Mohnöles mit dem japanischen Holzöle, bei welchem ein starker Goldschimmer und Rosafärbung eintraten, gab eine graue Färbung (wie das Rizinusöl allein), dann Spuren eines schwarzen Niederschlages und einen starken, aber dunklen bronzeglänzenden Schimmer.

5 + 12. Das Gemisch des Mohnöles mit dem Rizinusöle, welches sich durch eine graue Färbung auszeichnete, gab eine blaugraue Färbung und an der Wand einen goldglänzenden, im durchgehenden Lichte roten Belag.

5 + 14. Das Gemisch des Mohnöles mit dem Elaïn-Destillate gab eine rotbraune Färbung und einen geringen schwarzen Niederschlag. Das Resultat ist deshalb interessant, weil die einzelnen Öle keine Rotfärbung zeigten; deshalb ist auch der ultramikroskopische Befund unten beschrieben.

5 + 20. Das Gemisch des Mohnöles mit dem Paraffinöle gab an der Wand einen geringen goldglänzenden, im durchgehenden Lichte blauen Belag.

7 + 18. Das Gemisch des Olivenöles mit dem Walratöle, welche beide starke Rotfärbungen gaben und das Olivenöl außerdem ein sich absetzendes Blau, färbte sich rein blau und enthielt keinen Niederschlag.

10 + 12. Das Gemisch des Rizinusöles mit dem Sesamöle gab eine Graufärbung, in welcher schichtenweise ein blauer Niederschlag zu sehen war; dieser war auch am Boden abgesetzt zu sehen.

12 + 14. Das Gemisch des Rizinusöles mit dem Elaïn-Destillate gab eine Färbung, die der Summe der Färbungen bei den einzelnen Ölen entspricht.

12 + 20. Beim Erwärmen des Rizinusöles mit dem Paraffinöle und dem Reagens mischten sich die Öle nicht, das Paraffinöl blieb farblos, das Rizinusöl darunter färbte sich bräunlichgelb.

14 + 16. Das Gemisch des Lebertranes, welcher sich allein rot färbte und einen rosagefärbten Niederschlag ausschied, mit dem Elaïn-Destillate, gab eine rubinrote Färbung, wie der Lebertran allein, jedoch ohne jeden Niederschlag.

16 + 20. Das Gemisch des Lebertranes mit dem Paraffinöle gab nur eine rosarote Färbung und an der Wand einen geringen blauen Niederschlag.

Diese Resultate zeigen, daß die Reaktion des Gemisches nicht der Summe der Reaktionen mit den einzelnen Ölen gleich ist, außer in dem Falle, wo das eine Öl fast keine Reaktion gibt und die Eigenschaften des anderen wenig verändert, wie bei 12 + 14. Gewöhnlich verändert sich die Fähigkeit, das Gold in einer bestimmten Form zu fällen, und es dann in Verteilung zu erhalten, sehr stark.

Bei dem Mohn- und dem Sesamöle konnte man erwarten, daß dieselben ein Niederschlagen der Färbungen bei den anderen Ölen hervorrufen werden. Dieser Einfluß kam wirklich bei dem Mohnöle vor, und zwar stark, wenn dasselbe mit Hanföl, und schwach, wenn es mit Rizinusöl gemischt war; bei dem Leinölfirnisse und dem japanischen Holzöle hat sich dieser Einfluß nicht verwirklicht. Bei dem Sesamöle ist er ebenso wie beim Mohnöle im Hanf- und Rizinusöle eingetreten.

Beim Elaïn-Destillate war nur eine Abschwächung, nicht aber eine Verhinderung oder eine Verstärkung der Reaktion zu erwarten. Bei den Mischungen mit dem Lebertrane und dem Rizinusöle trat auch wirklich dieselbe oder eine abgeschwächte Färbung ein; im Leinölfirnisse verhinderte dagegen das Elaïn-Destillat die Rotfärbung (es entstand nur ein schwarzer Niederschlag) und beim Mohnöle entstand fast gar kein blauschwarzer Niederschlag, dafür aber eine rotbraune Färbung.

Bei dem Paraffinöle war zu erwarten, daß dasselbe die Mischbarkeit der anderen Öle mit dem alkoholischen Reagens vermindern und deshalb die Reaktionen stark abschwächen wird. Diese Erwartung erfüllte sich; der Leinölfirnis wurde nicht rot, das Mohnöl gab nur einen ganz geringen blauen, im reflektierten Lichte bronzeglänzenden Belag an der Wand, das Rizinusöl gab nur eine schwache gelbe Färbung, welche sich nach 24 Stunden deutlich in den Goldschimmer verwandelte, der Lebertran gab nur eine Rosafärbung und einen geringen blauen Niederschlag.

Was die nach der Reaktion sich ausscheidenden festen Fettkörper betrifft, so ist hervorzuheben, daß der Lebertran die charakteristische schwerschmelzende Fettausscheidung nach dem Vermischen mit dem Elaïn-Destillate oder dem Paraffinöle nicht gab, und ebenso das Nußöl bei Gegenwart von Olivenöl den violetten Niederschlag nicht bildete, wohl aber, und zwar im erhöhten Maße, in der Mischung mit dem Arachisöle.

Von allen bei den Mischungen ausgeführten Reaktionen war besonders diejenige interessant, wo eine neue, bis dahin nicht beobachtete Färbung eintrat, nämlich die Gelbfärbung des Rizinusöles, welches mit dem Paraffinöle und der alkoholischen Goldchloridlösung erwärmt wurde. Der ultramikroskopische Befund, der sich bei dem mit einer Pipette von dem Paraffinöle getrennten Rizinusöle ergab, ist deshalb hier ausführlich wiedergegeben:

Das freie Auge sah einen goldgelben Kegel; in das Glas verbreitete sich hinter dem Kegel ein weißes Licht. Im Ultramikroskope ist der Kegel schwarz. In 18 Quadraten wurden 278 Punkte gefunden, davon 15 besonders helle, gelbe, etwas mehr rote, noch mehr lichtgrüne, am zahlreichsten waren blasse, blaugrünlichgraue Punkte. Gruppen kamen nicht vor. Die Punkte sind fast durchgängig frei von Kreisen. Im mittleren Teile des Kegels wurde ausnahmsweise ein Punkt mit einem undeutlichen Kreise gesehen, am

Rande sind die Kreise weniger selten. Δ_{max} 180. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ sind alle dann sichtbaren Punkte mit 1 bis 3 blassen verschwommenen Kreisen umgeben, die meisten Kreise sind grünlichgelb, seltener sind orangegelbe, sehr selten rote Kreise. Im Analysator waren die Farben dieser Kreise bunter und beim Drehen desselben verdunkelten sich oder verschwanden die Kreise, nur 6 hellste Punkte zeigten die Kreise in unveränderter Helligkeit. Bei der scharfen Einstellung blieb der Kegel beim Drehen des Analysators beständig schwarz, der gelbe Schein bei den hellsten Punkten verlor sich, die Farbe derselben bewegte sich zwischen einer rötlichen und einer grünlichen, bei den anders gefärbten Punkten war die Farbenveränderung weniger auffallend, die blassen Punkte verschwanden gänzlich.

Bei einer Rizinusölprobe, in welcher dieselbe Reaktion unter denselben Verhältnissen schon vor 4 Tagen ausgeführt wurde und bei welcher sich die gelbe Färbung schon in einen Goldschimmer und zum großen Teile in einen goldglänzenden Belag an der Wand umgewandelt hatte, ergab sich folgender ultramikroskopischer Befund:

Das freie Auge sah einen goldglänzenden Kegel; hinter demselben verbreitete sich in das Glas ein weißes Licht. Im Ultramikroskope war der Kegel nur ganz schwach grünlichgrau beleuchtet. In 18 Quadraten sah man nur noch 110 Punkte, davon waren nur 10 hellleuchtend und gelb, die andern waren meistens rot oder orangegelb, seltener waren grünlichgraue Punkte. Bei keiner Einstellung waren die Punkte so frei von Kreisen wie gleich nach der Reaktion. In 18 Quadraten wurden 20 Punkte mit einem Kreise gefunden. Am Umfange des Sehfeldes hatten die Punkte bis 3 Kreise, diese waren jedoch nie so deutlich abgegrenzt, wie bei den blaugefärbten Ölen. Δ_{max} 460. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden in 18 Quadraten 22 Punkte mit bis 4, zum Teil rot-, zum Teil grünstichig gelben Kreisen gefunden. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel vollkommen, die blassen Punkte und Kreise verschwanden, bei den hellen trat in einer Lage die rotgelbe, in einer darauf senkrechten Lage die grüngelbe Farbe auf, die Farbe wechselte aber nicht zwischen der roten und grünen ab.

In diesem Falle wurde also eine Methode gefunden, wie man den in den früheren Versuchen schon beobachteten Goldschimmer selbständig hervorrufen kann und wie man sogar dessen Anfang, d. i. eine gelbe, jedes Metallglanzes freie Färbung erhalten kann, und es wurde gefunden, daß auch feine bunte Punkte dieser gelben

Färbung zugehören, was aus den Reaktionen, welche in zwei oder drei Formen auftraten, nicht entnommen werden konnte.

Es sei noch der Befund beschrieben, den das Gemisch von Mohnöl und Elaïn-Destillat ergeben hat:

Das freie Auge sah einen bläulichen, rückwärts gelbweißen Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe milchweiß. In 18 Quadraten wurden 6 Punkte gefunden, davon ein auffallend heller und gelber, 2 weniger helle und 3 kaum sichtbare blaßgrüne. Δ_{max} 340. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ umgaben sich die ersten 3 Punkte mit bis 4 Kreisen, welche beim Drehen des Analysators ihre Farbe zwischen rötlichgelb und grünlichgelb veränderten; der Kegel verdunkelte sich ein wenig. Dieser Befund entspricht einer schwachen gelben Färbung; die Zeichen einer roten Färbung wurden nicht gefunden; vielleicht waren dieselben sehr schwach und durch die auffallende blaue Farbe des Kegels verdeckt.

Versuche zur Sicherstellung des Einflusses von Verbindungen der andern edlen Metalle auf verschiedene Öle.

Um zu sehen, wie weit auch die Ölreaktionen mit den Verbindungen anderer edlen Metalle ultramikroskopisch verfolgt werden können, wurden zuerst bei ausgewählten Ölen parallele Reaktionen mit wässerigen Lösungen von Platinchlorid, Silbernitrat, Osmiumsäure und Rutheniumchlorid ausgeführt. Es wurde dazu das Olivenöl gewählt, weil es alle drei Formen der Goldreaktion gab, dann das Leinöl, weil es die höchste Jodzahl aufweist, das Mohnöl, weil es sich am stärksten blau färbte und die Farbe am schnellsten ausschied, das Hanföl, weil es sich nur wenig orangegelb färbte und schon vor der Reaktion durch eine große Anzahl von feinen Punkten ausgezeichnet war und endlich das Paraffinöl, auf welches die Goldchloridlösung keinen Einfluß ausübte. Es wurden wässerige Lösungen der Metallverbindungen benutzt, um einem eventuellen Einfluß von Alkohol vorzubeugen; dafür wurde die Berührung des Öles mit dem Reagens durch Schütteln unterstützt. Es wurden so wie bei Goldchlorid 0·6prozentige Lösungen dargestellt, und ebenfalls 1 g Öl mit 0·05 cm³ der Lösungen im Wasserbade erhitzt. Da nach einer halben Stunde die Reaktion nur beim Leinöle als eine Dunkelfärbung mit Silbernitrat und eine Weißfärbung mit Os-

miumsäure eintrat, so wurde die Menge des Reagens auf 1 cm^3 ergänzt und weitere 2 Stunden erhitzt.

Reaktionen mit Osmiumsäure. Makroskopisch wurden dreierlei Veränderungen beobachtet: 1) eine schwache Braunfärbung; dieselbe trat am stärksten beim Olivenöle hervor, dann beim Mohnöle, am schwächsten, grünlichbraun färbte sich das Leinöl; 2) eine schwache Graufärbung und die Ausscheidung eines schwarzen Niederschlages an der Berührungsstelle des Öles mit der Lösung; dieselbe trat ein beim Paraffinöle; 3) die Ausscheidung eines weißen Fettniederschlages; diese Reaktionsform trat beim Leinöle (ein grünlichweißer Satz) und beim Hanföle (ein gelbweißer Satz) ein.

Der ultramikroskopische Befund war infolge der Fettniederschläge beim Lein- und Hanföle und der Trübungen durch Fett beim Oliven- und Mohnöle nur beim Paraffinöle belehrend. Der Kegel enthielt 33 weiße, mit bis 3 Kreisen umgebene Punkte von Δ_{max} 200; ausnahmsweise wurden auch Gruppen von Punkten beobachtet. Im Analysator trat trotz des großen Δ keine Färbung bei den Punkten und Kreisen ein, beim Drehen desselben verschwand alles, bis auf die hellsten Punkte; der Kegel verdunkelte sich, blieb jedoch blau. Dieser Befund bei den Punkten kann dem gefällten Osmium zugeschrieben werden, weil das Öl nach der Reaktion klar blieb und weil Fettteilchen eher auffallende Gruppen und bunte, im Analysator zwischen blauviolett und gelb die Farbe verändernde Kreise gebildet hätten. Das Hanföl konnte infolge der großen Emulsion mit der wässerigen Lösung gar nicht untersucht werden. Beim Lein-, Mohn- und Olivenöle wurden in sehr großer Zahl so feine Punkte gefunden, daß sie gar nicht gezählt werden konnten. Außerdem kamen auch Punkte mit Kreisen vor, die sich ebenso verhielten, wie die beim Paraffinöle beschriebenen Kreise und deshalb auf die hellbraune Färbung mit Osmiumsäure zurückgeführt werden können. Mit Rücksicht darauf, daß die Osmiumsäure besonders in dem Hanf- und Leinöle Fettkörper bildete, welche selbst bei 100° nicht schmolzen und welche dem Öle eine außerordentliche Emulsionsfähigkeit erteilten, ist es hier nicht zu hoffen, daß die Frage, welche von den Punkten dem gefällten Osmium und welche dem ausgeschiedenen Fette angehören, selbst mit einem auf Erwärmung eingerichteten Ultramikroskope gelöst werden könnte.

Reaktionen mit Platinchlorid. Makroskopisch wurde außer der Entfärbung von Leinöl keine Veränderung in der Farbe beobachtet. Es traten aber Fettausscheidungen ein; beim Paraffin-

öle setzte sich die Trübung in Form eines Häutchens an der Berührungsstelle des Öles und der Lösung ab. Das Mohnöl blieb deutlich getrübt, ohne einen Niederschlag zu bilden. Das Olivenöl trübte sich bis zur Undurchsichtigkeit, und zwar nicht nur infolge der Fettausscheidung, sondern auch infolge der Emulsion. Das Leinöl trübte sich und schied einen Niederschlag an der Wand aus. Beim Hanföle sammelte sich auch das ausgeschiedene Fett, es konnte sich jedoch infolge der zu großen Dickflüssigkeit nicht absetzen und bildete nur Streifen und Häutchen, die im Öle schwammen. Bei diesem letzten Öle war allein eine Reduktion von Platin sichtbar, und zwar setzte sich aus der wässerigen Lösung ein schwarzer Niederschlag am Boden und an der Wand ab.

Der ultramikroskopische Befund entspricht nur Fettausscheidungen. Am kompliziertesten war derselbe beim Hanföle, wo wir viererlei Erscheinungen sahen: 1) feine weiße Punkte, die sowohl beim Drehen der feinen Einstellung als auch beim Drehen des Analysators sofort verschwinden; 2) größere weiße mit bis 4 Kreisen umgebene Punkte von Δ_{max} 106, welche sich beim Drehen des Analysators nicht färben, sondern nur verblassen; 3) Gruppen von 6 bis 18 weißen Punkten, welche beim Drehen der feinen Einstellungsvorrichtung ohne Kreisbildung verschwinden und deren Farbe sich beim Drehen des Analysators zwischen einer orangegelbstichigen und einer rotstichigen bewegt; 4) breite Ströme heller orangegelber Punkte, von welchen auf ein Quadrat etwa 20 kommen und welche sich wie die Punkte der Gruppen verhalten. Der Kegel ist im Ultramikroskope milchweiß und seine Farbe schwankt beim Drehen des Analysators zwischen einer helleren gelblichen und einer dunkleren bläulichen.

Beim Oliven-, Lein- und Mohnöle sehen wir auch große und kleine Punkte und Gruppen, jedoch keine Ströme von Punkten. Das Paraffinöl zeigte im ganzen Kegel 39 Punkte, einige davon mit bis 3 Kreisen und seltene Gruppen zu etwa 7 Punkten. Als sehr wichtig muß hier hervorgehoben werden, daß die Kreise trotz eines kleineren Δ_{max} (110) gefärbt waren, und zwar meistens violett und gelb, seltener rot und grün.

Beim Olivenöle und dem Paraffinöle scheint es, daß sich die ursprünglichen, große Kreise bildenden und wahrscheinlich den Staubteilchen zugehörigen Punkte mit Kreisen trotz der Fettausscheidung erhalten haben. Das Olivenöl zählte ursprünglich im ganzen Kegel 85 helle gelbe bis rote Punkte mit bis 4 Kreisen, welche im Analysator sehr bunt

waren und beim Drehen desselben die Farbe veränderten. Nach der Reaktion fand man noch 14 solche Punkte. Das Paraffinöl zeigte derartige Punkte vor der Reaktion nur stellenweise; nach der Reaktion wurden dieselben zwischen den Punkten mit violetten und gelben Kreisen wiedergefunden. Beim Lein-, Hanf- und Mohnöle verschwanden solche Punkte nach der Reaktion. Daß sich die betreffenden Punkte in den zwei Fällen erhalten haben, würde auch beweisen, daß hier eine Reduktion des Metalles im Öle und eine Ausscheidung desselben nicht eintrat.

Reaktionen mit Silbernitrat. Makroskopisch wurde eine Farbenveränderung nur beim Leinöle konstatiert, welches sich bräunte und an der Wand, sowie an der Berührungsstelle mit der wässerigen Lösung einen schwarzen Niederschlag absetzte. Das Hanföl trübte sich; am Boden, unter der wässerigen Lösung schied sich ein kleiner schwarzer Niederschlag aus. Das Mohnöl trübte sich weiß; an der Berührungsstelle mit der wässerigen Lösung bildete sich ein weißes Häutchen. Das Olivenöl trübte sich stark weiß und an der Berührungsstelle mit der wässerigen Lösung bildete sich ein schwarzes Häutchen. Das Paraffinöl blieb klar, aber an der Wand und an der Berührungsstelle mit der wässerigen Lösung bildete sich ein schwarzes Häutchen.

Bei der Beurteilung der Fettniederschläge ist nicht zu vergessen, daß alle Öle, am meisten jedoch das Lein- und Hanföl, schon beim Erhitzen im Wasserbade mit bloßem Wasser weiße Fettniederschläge oder Häutchen bilden, und daß diese Ausscheidungen ein Fällen von Silber mit dem Fette und eine Verhinderung der Gruppierung des Silbers zur Folge haben können.

Der ultramikroskopische Befund unterscheidet sich in einigen Fällen von dem Bilde, welches das durch Formaldehyd aus dem Silbernitrat ausgeschiedene Silber darbietet. In diesem Falle sieht das freie Auge einen auffallenden blauen Kegel. Im Ultramikroskope ist derselbe milchweiß und wird beim Drehen des Analysators dunkler. Er enthält feine weiße Punkte; bei einer heftigen Reaktion sind dieselben grünlichweiß, zum Teil auch orangegelb und selten rot. Fast alle Punkte umgeben sich beim Heben des Tubus mit Kreisen. Δ_{max} 70. Beim Drehen des Analysators veränderte sich die Farbe nicht.

Bei manchen Ölen sahen wir keine bläulichweißen Kegel und es kommen auch Punkte mit mehr und größeren, bunter gefärbten Kreisen vor, was darauf hindeutet, daß das Gruppieren von Silber-

teilchen vorgeschritten ist. Deutlich sieht man dieses in den folgenden Befunden, in welchen natürlich das abzusondern ist, was Fetteilchen entspricht und was sich schon nach dem Erwärmen mit bloßem Wasser zeigen könnte.

1. Leinöl. Der Kegel war nur schwach beleuchtet und enthielt im ganzen 173 Punkte; die Mehrzahl davon hatte bis 5 Kreise. J_{max} 120. Die Färbung der Punkte und Kreise war auffallend bunt. Im Analysator wurde sie nicht bunter; beim Drehen desselben veränderte sich die Farbe von Rosa in Blaßgrün, die feinen Punkte verschwanden dabei und der Kegel verdunkelte sich vollkommen. Im ganzen Kegel wurden auch 7 Gruppen zu 8 bis 12 Punkten gefunden.

3. Hanföl. Der Kegel war milchweiß, beim Drehen des Analysators wurde er blasser. Man sah drei Arten von Punkten. Die ersten waren mäßig licht, blaßblaugrün oder rot. Im ganzen Kegel fand man von denselben 136; beim Heben des Tubus bildeten sie durchwegs Kreise, jedoch schwache, verschwommene, welche sich bald verloren und beim Drehen des Analysators die Farbe wenig veränderten. J_{max} 76. Φ_{max} $2^1/_2$. Die zweite Art waren einzelne auffallende Punkte, mit Φ_{max} 6. Zwischen beiden diesen Arten von Punkten waren lichtere Stellen zu sehen, welche den ganz feinen Punkten vor der Reaktion entsprechen würden.

5. Mohnöl. Der Kegel war nur durch einen ganz schwachen bläulichen Schein beleuchtet, der beim Drehen des Analysators noch abnahm. Im ganzen Kegel waren 270 Punkte zu sehen, zum Teil weiße, zum Teil gefärbte, und zwar kamen alle Regenbogenfarben vor. Fast durchwegs waren bei den Punkten 1 bis 4 Kreise zu sehen. Beim Drehen des Analysators zeigte sich bei den Punkten und Kreisen auffallend häufig die violette und grünliche Farbe. Punktegruppen kamen unregelmäßig vor, dieselben waren groß und entsprachen der Fettausscheidung.

7. Olivenöl. Der Kegel war im Ultramikroskope milchweiß und bestand aus lauter feinen unzählbaren Punkten. Unter denselben waren nur etwa 29 Punkte in 18 Quadraten etwas deutlicher, sie bildeten aber keine Kreise. Im ganzen Kegel kamen noch 28 helle Punkte mit Kreisen vor. Im Analysator wurden die hellen Punkte rot oder grün: beim Drehen des Analysators vertauschten sich diese Farben, die feineren Punkte veränderten die Farbe zwischen silberweiß und rosa, die feinsten verschwanden gänzlich, der Kegel verblaßte.

20. Paraffinöl. Der Kegel war undeutlich weiß mit einem Stiche in blauviolett und enthielt 160 deutliche Punkte, fast durchwegs mit Kreisen, und zwar mit bis 7 Kreisen. Die Farben waren ziemlich bunt und auffallend war die Menge der violetten Punkte und Kreise. Gruppen kamen nicht vor. Beim Drehen des Analysators nahm die Helligkeit der Punkte und Gruppen stark ab.

Diese Befunde unterscheiden sich sowohl von denjenigen bei dem ursprünglichen Öle, als auch von den Befunden bei Goldchlorid. Da sich das Silber mit Metallglanz oder als schwarzer Niederschlag

aus den Ölen und nicht aus der darunter liegenden wässerigen Lösung ausschied, so muß man daraus schließen, daß die oben erwähnten Punkte wenigstens zum Teil zu dem Silber gehören.

Aus den beschriebenen Befunden geht hervor, daß alle 5 untersuchten Öle Abweichungen von den Befunden vor der Reaktion aufweisen, und daß sich diese Abweichungen von denjenigen Erscheinungen unterscheiden, welche Fettausscheidungen begleiten; es sprechen deshalb die angeführten Befunde für eine Reduktion von Silber. Beim Olivenöle könnten die submikroskopischen, noch keine Kreise beim Heben des Tubus bildenden und zwischen den Quadraten des Zählapparates undeutlichen Punkte für Silberteilchen gehalten werden, die einen Übergang zwischen den beiden Formen, unter welchen das Silber bei der Reaktion des Silbernitrates mit Formaldehyd auftritt, bilden, nämlich zwischen den amikroskopischen Teilchen, welche die Blaufärbung des Kegels verursachen und zwischen den submikroskopischen Teilchen, welchen bunte beim Heben des Tubus Kreise bildende Punkte entsprechen. Wie weit alle angeführten Befunde dem Silber und wie weit dieselben dem Fettniederschlage zuzurechnen wären, könnte jedenfalls nur mit Hilfe des Ultramikroskopes mit Heizvorrichtung genau entschieden werden.

Reaktionen mit Rutheniumchlorid. Ob zwar die charakteristischen Reaktionen bei Schleimen mit einer ammoniakalischen Lösung ausgeführt werden, wurde doch der Einfluß der nicht ammoniakalischen geprüft, um das Reaktionsergebnis durch die Bildung von Ammoniakseifen und die dadurch erhöhte Emulsionsfähigkeit nicht zu ändern. Daß bei einem Reagens, welches so außerordentlich die Verteilung und Vermischung der wirkenden Körper erhöht, wie die ammoniakalische Lösung, eine Reaktion eintreten muß, war schon im voraus sicher. Bei der Prüfung mit der nichtammoniakalischen Lösung mußte die Reaktion zwar schwächer ausfallen, sie war aber dann charakteristisch nur für das Öl und wurde nicht durch Nebenumstände, z. B. durch die Menge der beim Ranzigwerden freigewordenen Fettsäuren beeinflußt.

Um den Charakter der Rutheniumteilchen im Ultramikroskope sicherzustellen, wurde zuerst eine, durch Kochen mit Formaldehyd reduzierte Rutheniumchloridlösung untersucht und dabei folgendes beobachtet:

Das freie Auge sah keinen Kegel und auch im Ultramikroskope war derselbe nicht sichtbar. An seiner Stelle schwammen weiße, gelbliche, grünliche und orangegelbliche Punkte, welche sich beim

Heben des Tubus mit Kreisen umgaben. Es waren auch Gruppen von 3 bis 4 Punkten sichtbar. Die Kreise waren bei den Punkten weiß, bei den Gruppen ein wenig gefärbt. Φ_{max} 4. Beim Drehen des Analysators verschwanden die blassen Kreise, die hellen wurden abgeschwächt. Farbenveränderungen sind höchstens bei den, den größeren Gruppen zugehörenden Kreisen deutlich, und nur gering.

Makroskopisch war nur eine Färbung bei dem Mohnöle zu sehen, und zwar eine Braunfärbung. Die anderen Öle blieben unverändert. Die ultramikroskopische Untersuchung zeigte, soweit man dieselbe vornehmen konnte, nur Veränderungen, welche Fettkörpern entsprechen, die sich auch durch zweistündiges Erhitzen mit bloßem Wasser und Auskühlen ausscheiden. Das Hanföl war so trüb und dick, daß es gar nicht untersucht werden konnte; erst nach vielen Tagen konnte eine Scheidung in eine braune ölige, in eine lichtbraune feste und in eine wässerige Schicht beobachtet werden.

Reaktionen mit ammoniakalischen Lösungen. a. mit ammoniakalischer Silbernitratlösung. Da sich bei der Reaktion mit der wässerigen Silbernitratlösung außer beim Leinöle trotz des Schüttelns und der langen Erhitzung keine makroskopischen Veränderungen zeigten, wurde der Versuch bei allen anfangs genannten 20 Ölen mit 0·05 cm^3 einer ammoniakalischen Lösung wiederholt. Bei der Darstellung der letzteren wurden 6 g Nitrat per l verwendet und nur soviel Ammoniak zugesetzt, als davon zum Fällen des Nitrates und zum Wiederlösen des Niederschlages nötig war. Dieses geschah, um nicht durch einen größeren Ammoniakzusatz eine Verseifung von größeren Mengen freier Fettsäuren hervorzurufen, da dann das Ergebnis mehr die Folge der Verseifung als die der charakteristischen Öleigenschaften hätte sein müssen.

Makroskopischer Befund. Bei den Elaïnen und dem Nußöle konnten keine Veränderungen beobachtet werden. Der Dreikronentran trübte sich schwach. Das Paraffinöl setzte schwarze Silberhäutchen ab. Das Mineralöl war gleich nach der Reaktion klar, trübte sich aber mit der Zeit; die Silberlösung am Boden wurde ebenso wie beim Paraffinöl braun und schied einen schwarzen Niederschlag aus. Das Mohnöl setzte weiße Flocken ab; beim Pferdeöl wurde die Farbe nur unbedeutend grünlicher; bei Rizinusöl gelblicher. 5 Öle färbten sich orangegelb, und zwar am meisten der Leinölfirnis (dunkel und bräunlich), dann das japanische Holzöl,

das Walratöl, das Leinöl, am schwächsten das Hanföl. Das Baumwollsamenöl färbte sich braun; das Olivenöl wurde gelber und schied einen braunen Niederschlag aus; braune Färbungen und Niederschläge gaben noch das Arachisöl, das Sesamöl und natürlich besonders stark das Rapsöl. Der Lebertran ergab eine Braunfärbung mit starker grüner Fluoreszenz und einen dunklen, am Lichte schnell schwarz werdenden Niederschlag.

Bei der ultramikroskopischen Beobachtung wurde leider bis auf zweifelhafte Ausnahmen nichts gefunden, was auf reduziertes Silber hingedeutet hätte. Der für Silber charakteristische blaue Kegel wurde nur beim Nuß-, Sesam- und Rizinusöl gefunden, und zwar auch hier nur blaß. Eine Vermehrung von Punkten um solche, welche sich beim Heben des Tubus mit undeutlichen Kreisen umgeben, trat nur beim Hanföle ein. Es waren aber nicht rote, sondern nur weiße Punkte. Beim Lebertrane, der allein eine grüne Fluoreszenz, später einen schwarzen Niederschlag gab, zeigten sich in 18 Quadraten 67 feine, wenig gefärbte Punkte, davon 7 mit bis 4 Kreisen und im ganzen Kegel 2 Gruppen von 3 bis 4 Punkten; J_{max} 170. Beim Heben des Tubus um 20 μ nahm aber die Anzahl der mit Kreisen umgebenen Punkte nicht zu, wie es hätte nach dem Befunde bei der mit Formaldehyd reduzierten Silberlösung geschehen sollen. Wo eine Gelb- oder Orangegelbfärbung eintrat, war dies nicht vom Silber, sondern schon von dem bloßen Erhitzen mit einer Nitratlösung überhaupt und mit Ammoniak. Im Ultramikroskope war hier nur eine gelbe Färbung des Kegels auffallend, und zwar wenigstens, wenn man an den rückwärtigen Teil der Küvette eingestellt hatte; beim Leinölfirnis war der Kegel graubraun, beim japanischen Holzöle gelb. Die Braunfärbung, welche durch die Fällung von Schwefelsilber verursacht wird und deshalb beim Rapsöl, welches den meisten Schwefel enthält, am stärksten hervortritt, wurde auch nur durch eine orangegelbe Färbung des Kegels bei der Betrachtung desselben mit freiem Auge begleitet; beim Baumwollsamenöle war diese Kegelfärbung nur gelb. In dem nach der Reaktion dunklen und trüben Dreikronentrane war sowohl bei der Betrachtung mit dem freien Auge als auch im Ultramikroskope die starke Rotfärbung des Kegels auffallend; beim Paraffinöle nahm die Zahl der Punkte in 18 Quadraten um 40 zu, dieselben entsprachen aber den Fettteilchen, die sich schon nach dem Kochen mit Wasser und Auskühlen ausscheiden und stimmten deshalb mit den bei der wässerigen Goldchloridlösung gesehenen Punkten überein. Außer dem Hanf- und

Walratöle zeigten alle Öle mehr oder weniger Gruppen, bis 18 in 18 Quadraten, manche Gruppen hatten bis 160 Punkte; bei allen war aber klar, daß sie Fett- und Seifenteilchen darstellen. Das Fett und die Seife zeigten sich jedoch auch in Form von feinen Punkten und Punkten mit Kreisen, wie z. B. bei Walratöl. Der Kegel war der Zahl dieser Gruppen und Punkte entsprechend weiß und hell.

Aus dem Vorangehenden ist zu sehen, daß bei dieser Versuchsreihe der Fett- und Seifenniederschlag die Beobachtung des reduzierten oder in Verbindungen gefällten Silbers verhindert hatte, und daß man nur mit Anwendung eines Ultramikroskopes mit Heizvorrichtung die den Fettniederschlägen entsprechenden Eindrücke beseitigen und die eigentliche Silberreaktion erkennen könnte.

b. Reaktionen mit ammoniakalischer Rutheniumchloridlösung. Die mit 1 cm^3 einer ammoniakalischen Rutheniumchloridlösung wie bei den nichtammoniakalischen Lösungen der anderen Edelmetalle ausgeführte Reaktion hatte außer bei dem Paraffinöle eine solche Schwarzfärbung zur Folge und es entstand selbst bei dem Olivenöle eine so starke Emulsion, daß man diese Öle der ultramikroskopischen Beobachtung gar nicht unterwerfen konnte. Die Reaktion bei dem Mohnöle war deshalb sehr interessant, weil sich in der unter dem Öle gesammelten wässerigen Flüssigkeit ein durch Rutheniumrot wie bei den Schleimen satt gefärbter Niederschlag abgesetzt hat. Die Versuche mußten mit 0·05 cm^3 wiederholt werden. Dabei wurden die Öle zwei Stunden erwärmt, und zweimal, nämlich am Anfang und in der Mitte des Erhitzens mit dem Reagens umgeschüttelt.

Der makroskopische Befund war der folgende: Das Paraffinöl veränderte sich gar nicht; aus dem Reagens setzte sich ein schwarzer Niederschlag ab. Das gelbe Mineralöl verdunkelte sich kaum merklich in Orangegelb; das Reagens schied ebenfalls einen schwarzen Niederschlag aus. Bei allen anderen Ölen sehen wir auffallende Veränderungen in dreierlei Richtung, und zwar entweder rotbraune oder schwarzbraune oder schwarze Färbungen. Die rotbraune Färbung ist am schwächsten beim Dreikronentrane und fortschreitend deutlicher beim Nußöle, Sesamöle, dem Lebertrane, dem Leinölfirnis, dem japanischen Holzöle, dem Lein-, Baumwollsamen-, Hanf- und Walratöle. Die schwarzbraune Färbung ist am schwächsten beim Mohnöle, steigt dann beim Rizinus- und Pferdeöle und ist am größten beim Rapsöle. Eine schwarze Färbung finden wir beim Oliven- und

Arachisöle; bei dem ersteren ist noch ein brauner Stich sichtbar, das andere ist rein schwarz und zeigt außerdem einen reichlichen schwarzen Niederschlag. Einen deutlichen blassen Fettsatz schied das Pferde-, Nuß- und Sesamöl aus, das Elaïn-Saponifikat, der Leinölfirnis, das japanische Holzöl, das Leinöl und das Baumwollsamenöl, welches überhaupt erstarrte. Getrübt waren die Trane.

Der ultramikroskopische Befund war trotz der hervortretenden Niederschläge sehr interessant, weshalb er hier ausführlich wiedergegeben ist.

1. Leinöl. Das freie Auge sah einen vorne blauweißen, rückwärts gelben Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe blauweiß und enthielt 41 Punkte, von welchen 22 mit bis 5 Kreisen umgeben waren, außerdem 22 Gruppen von 3 bis 14 Punkten; die Punkte waren gelb, die Kreise und Gruppen bunt. Größere Kreise waren aus radialen Strichen zusammengesetzt. J_{max} 400. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren im ganzen Kegel nur noch 6 Punkte mit Kreisen sichtbar; diese Kreise waren weder bunt noch deutlich. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Kreise und die Punkte verschwanden vollkommen, die Gruppen verblaßten.

2. Leinölfirnis. Das freie Auge sah einen vorne weißen, rückwärts dunkelorangegelben Kegel. Im Ultramikroskope war derselbe hell und gelbweiß und enthielt 35 gelbweiße Punkte, von welchen 3 mit einem blassen Kreise umgeben waren, außerdem 10 Gruppen zu 8 Punkten. J_{max} 80. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ sah man ebenfalls 3 Punkte mit blassen, gelbweißen Kreisen. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Punkte, die Gruppen und die Kreise verschwanden.

3. Hanföl. Das freie Auge sah einen vorne gelben, rückwärts dunkelorangegelben Kegel; im Ultramikroskope war derselbe orangegelb, sehr hell und man sah deshalb in ihm nur 15 sehr undeutliche, ebenfalls orangegelbe Punkte, davon einen mit einem undeutlichen Kreise. J_{max} 76. Auch nach dem Heben des Tubus um 20 μ sah man bei einem Punkte einen undeutlichen Kreis von der Farbe des Kegels. Gruppen kamen nicht vor. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Punkte und die Kreise verschwanden.

4. Nußöl. Das freie Auge sah einen vorne blaugrünen, rückwärts grünen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe blaß blaugrün. In 18 Quadraten waren 18 weiße Punkte; im ganzen Kegel waren 5 Punkte mit bis 4 in allen Regenbogenfarben gefärbten Kreisen und 10 sehr blasse und undeutliche Gruppen; ausnahmsweise waren auch große, hellleuchtende, 6 Quadrate große Gruppen zu sehen. J_{max} 130. Auch nach dem Heben des Tubus um 20 μ kamen im ganzen Kegel nur 5 Punkte mit Kreisen vor, teilweise mit bunten und deutlichen, teilweise mit blassen, undeutlichen. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die blassen Punkte und Kreise verschwanden, bei den hellen, sowohl einzelnen als auch gruppierten Punkten, vertauschten sich die Farben, vorzugsweise die gelbe und die violette.

5. Mohnöl. Das freie Auge sah einen blassen, bläulichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe blaß, blauweiß. In 18 Quadraten wurden 55 weiße, ungleich dicht verteilte Punkte gefunden; 4 davon hatten 1 bis 2 undeutliche weiße Kreise. Δ_{max} 134. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden in 18 Quadraten 7 Punkte mit Kreisen gefunden; bei 5 Punkten waren die Kreise blaß, bei 2 bunt. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Punkte und die Kreise verschwanden.

6. Japanisches Holzöl. Der Kegel erscheint dem freien Auge blaßgrün, rückwärts grün; im Ultramikroskope war derselbe hell, blauweiß. In 18 Quadraten wurden 9 Punkte gefunden, davon 3 mit bis 4 wenig bunten Kreisen; außerdem waren im ganzen Kegel 2 Gruppen mit 5 bis 7 hellen Punkten. Δ_{max} 120. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden in 18 Quadraten nur 3 Punkte mit Kreisen gesehen; dieselben waren entweder blaß und undeutlich oder etwas bunter und deutlicher. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die Kreise verschwanden, von den Punkten blieben nur die hellsten Punkte in den Gruppen sichtbar.

7. Olivenöl. Das freie Auge sah einen bläulichweißen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe bläulich, sehr wenig hell. In 18 Quadraten wurden 32 Punkte gefunden, 7 davon mit bis 3 nicht sehr deutlichen in allen Regenbogenfarben gefärbten Kreisen. Rote Punkte gab es im ganzen Kegel 2. Auch waren in demselben 6 Gruppen mit 3 bis 11 Punkten. Δ_{max} 136. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren in 18 Quadraten 13 Punkte mit wenig deutlichen, aber ziemlich bunten Kreisen. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel, die hellsten Punkte der Gruppen verblaßten, alles übrige verschwand.

8. Arachisöl. Das freie Auge sah einen wenig hellen, weißen Kegel: im Ultramikroskope war derselbe dunkel. In 18 Quadraten waren 9 einzelne Punkte zu sehen, davon 3 mit 1 unbestimmten, blassen Kreise, und 7 Gruppen mit 3 oder 4 Punkten. Die Punkte sind meistens weiß, nur einige, besonders in den Gruppen waren blaßgefärbt; in 18 Quadraten war ein Punkt rot. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ waren in 18 Quadraten 14 Punkte mit Kreisen zu sehen, und zwar mit wenig deutlichen und schwach aber buntgefärbten Kreisen. Beim Drehen des Analysators wurde der Kegel vollkommen dunkel, einige Punkte in den Gruppen verblaßten nur, alles übrige verschwand.

9. Baumwollsamenöl. Das freie Auge sah einen roten Kegel; im Ultramikroskope war derselbe orangegelb, undeutlich begrenzt; beim Drehen des Analysators verdunkelte er sich bedeutend. Anderes konnte infolge der Trübung nicht bestimmt werden.

10. Sesamöl. Das freie Auge sah einen blaßbläulichen, rückwärts grünen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe grau. In 18 Quadraten waren 4 weiße Punkte und 3 Gruppen mit 3 bis 4 Punkten zu sehen. Punkte mit Kreisen kamen im ganzen Kegel 8 vor, nach dem Heben des Tubus um 20 μ 12; die Kreise waren undeutlich blaß. Δ_{max} 64. Beim Drehen des Analysators verdunkelte sich der Kegel (ebenso bei allen nachfolgenden Ölen), die hellsten Punkte verblaßten, alles übrige verschwand.

11. Rapsöl. Das freie Auge sah einen blauen, rückwärts grünlichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe bläulichweiß. In 18 Quadraten

wurden 38 weiße oder gelbliche Punkte, welche sämtlich frei von Kreisen waren, gefunden und im ganzen Kegel 4 Gruppen mit 3 bis 4 Punkten. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ fand man im ganzen Kegel 8 Punkte mit Kreisen. Soweit diese Punkte bei der scharfen Einstellung Punktegruppen gaben, waren sie bunt gefärbt; die übrigen waren ganz blaß, undeutlich. Δ_{max} 80. Beim Heben des Analysators verschwanden die Punkte, die von Gruppen gebildeten Kreise verblaßten.

12. Rizinusöl. Das freie Auge sah einen bläulichen, rückwärts grünlichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe blaßblau. In 18 Quadraten befanden sich 4 weiße oder gelbliche Punkte; im ganzen Kegel 5 Punkte mit einem sehr undeutlichen Kreise und 2 Gruppen mit 3 bis 6 teilweise hellen Punkten. Δ_{max} 154. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ fand man im ganzen Kegel 17 Punkte mit Kreisen. Diejenigen Kreise, welche bei der scharfen Einstellung helle Gruppen zeigten, waren bunt gefärbt, die andern blaß, undeutlich. Beim Drehen des Analysators verschwanden die blassen Punkte und Kreise, die hellen Punkte und die bunten Kreise verblaßten.

13. Pferdeöl. Das freie Auge sah einen blaugrünen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe blauweiß. In 18 Quadraten fand man 3 weiße Punkte, im ganzen Kegel 4 Punkte mit sehr unbestimmten, blassen, ungefärbten Kreisen und 2 Gruppen mit 3 bis 6 Punkten. Δ_{max} 88. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ sah man im ganzen Kegel 9 Punkte mit ebensolchen Kreisen wie früher. Beim Drehen des Analysators verschwand alles vollkommen.

14. Elaïn-Destillat. Das freie Auge sah einen weißen, rückwärts orangegelben Kegel; im Ultramikroskope war derselbe gelb und enthielt entweder keine Punkte oder nur einen gelben mit einem undeutlichen Kreise umgebenen Punkt. Ausnahmsweise fand man 1 bis 6 Gruppen mit etwa 12 Punkten. Beim Drehen des Analysators verschwand fast alles, die hellsten Punkte verblaßten nur.

15. Elaïn-Saponifikat. Das freie Auge sah einen wenig hellen, weißen, rückwärts gelblichen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe blaßgelb und enthielt 41 gelbe Punkte, und zwar 15 hellere und 26 kaum sichtbare, ausnahmsweise auch eine Gruppe mit 5 Punkten. Im ganzen Kegel waren nur 2 Punkte mit einem sehr undeutlichen gelben Kreise zu sehen; dasselbe fand man auch beim Heben des Tubus um 20 μ. Δ_{max} 70. Beim Drehen des Analysators verblaßten die hellsten Punkte in den Gruppen, alles andere verschwand.

16. Lebertran. Das freie Auge sah einen vorne weißen, rückwärts gelben Kegel; im Ultramikroskope war derselbe gelbweiß. In 18 Quadraten wurden 34 gelblichweiße Punkte gesehen, davon einer mit einem sehr undeutlichen Kreise. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ wurden im ganzen Kegel 13 Punkte mit ebensolchen Kreisen gefunden. Δ_{max} 54. Gruppen kamen nicht vor. Beim Drehen des Analysators verblaßten stark die hellsten Punkte, alles übrige verschwand.

17. Dreikronentran. Das freie Auge sah einen vorne weißen, rückwärts orangegelben Kegel; im Ultramikroskope war derselbe orangegelb. In 18 Quadraten befanden sich 5 orangegelbe Punkte; im ganzen

Kegel war nur ein Punkt mit einem sehr schwachen Kreise zu sehen und ebenso auch nach dem Heben des Tubus um 20 μ. J_{max} 18. Gruppen kamen nicht vor. Beim Drehen des Analysators verschwanden sowohl die Punkte als auch die Kreise.[1]

18. Walratöl. Das freie Auge sah einen vorne orangegelben, rückwärts dunkelroten Kegel; im Ultramikroskope war derselbe schön rot. Punkte waren entweder gar nicht zu sehen oder höchstens 3 im ganzen Kegel, und zwar ohne Kreise und von derselben Farbe wie der Kegel. Ausnahmsweise fand man im ganzen Kegel eine Gruppe von 10 Punkten. J_{max} 46. Beim Drehen des Analysators verblaßten die Punkte in der Gruppe, alles andere verschwand.

19. Gelbes Mineralöl. Das freie Auge sah einen vorne blauen, rückwärts grünen Kegel: im Ultramikroskope war derselbe blaßblau. In 18 Quadraten sah man 16 weiße Punkte durchwegs ohne Kreise und im ganzen Kegel 2 Gruppen mit 8 und 30 hellleuchtenden, wenig bunten Punkten. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ sah man im ganzen Kegel nur einen Punkt mit ganz undeutlichen schwachen Kreisen. Beim Drehen des Analysators verblaßten die Gruppen, veränderten jedoch die Farbe nicht; die Punkte verschwanden.

20. Paraffinöl. Das freie Auge sah einen blaßblauen Kegel; im Ultramikroskope war derselbe kaum sichtbar und enthielt bis 10 weiße oder wenig gefärbte Punkte ohne Kreise; ausnahmsweise fand man kleine Gruppen von undeutlichen Punkten und ganze Streifen von Punkten; diese Streifen waren 4 Quadrate breit und hatten etwa 12 Punkte in einem Quadrate. Nach dem Heben des Tubus um 20 μ fand man im ganzen Kegel 3 Punkte mit undeutlichen gelblichen Kreisen. J_{max} 66. Beim Drehen des Analysators verschwand alles bis auf die hellsten Punkte und die aus denselben sich bildenden Kreise. —

Die in diesen Befunden enthaltenen Resultate können wir im folgenden zusammenfassen:

Das Mineral- und das Paraffinöl, die sich fast gar nicht veränderten, die sich aber sonst bei anderen wässerigen Reagentien mehr oder weniger trübten, zeigten Punkte ohne Kreise und Gruppen, die ausgeschiedenem Fette entsprechen. Beim Heben des Tubus zeigten sich Punkte mit Kreisen; bei Drehen des Analysators traten keine Farbenveränderungen ein.

Die sich rotbraun färbenden Öle (vom Dreikronentran bis zum Walratöle) zeigten dem freien Auge und auch im Ultramikroskope einen immer gelberen und röteren Kegel: die Farbe des Kegels war um so gelber und röter, je mehr diese Farben schon makroskopisch hervortraten. In keinem Falle konnte eine Zunahme der Punkte mit Kreisen nach dem Heben des Tubus sichergestellt werden (bei dem Sesamöle umgaben sich mit neuen Kreisen nur die Gruppen). Eine Zunahme von Punkten überhaupt nach der Reaktion kam nur bei

solchen Ölen vor, welche eine Trübung oder einen Satz abschieden und es stellten diese Punkte auch ihrem Charakter nach Fettteilchen vor. Auch wo bei der Reaktion Punkte mit Kreisen zunahmen, entsprechen dieselben der Fetttrübung. Daß die Rotbraunfärbung bei Ruthenium nur durch mikroskopische Teilchen erzeugt wurde, beweist am besten das Elaïn-Destillat, welches bei einer starken Bräunung keine Punkte zeigte.

Die anderen Öle, bei welchen entweder nur eine Schwarzfärbung oder außerdem auch eine Braunfärbung makroskopisch sichtbar war, zeigten im Ultramikroskope eine Vermehrung der Punkte. Bei dem Pferdeöle nahmen zwar die Punkte überhaupt ab, weil weniger Fettteilchen ausgeschieden waren, dafür nahmen die mit Kreisen umgebenen Punkte zu. Auch in dem Mohn- und Arachisöle ist eine Zunahme der Punkte mit Kreisen nach der Reaktion eingetreten. Alle Öle, bei welchen eine Schwarzfärbung sichtbar war, hatten das Gemeinsame, daß bei ihnen nach dem Heben des Tubus um 20 μ mehr Punkte mit Kreisen gefunden wurden als vor der Reaktion, was auch mit dem Befunde bei mit Formaldehyd reduzierter Rutheniumchloridlösung in Übereinstimmung war. Die beim Heben des Tubus sich bildenden Kreise waren außer beim Pferdeöl mäßig bunt. Obzwar diese Öle bis auf das Pferdeöl klar waren, so wurden doch bei ihnen zahlreiche Gruppen gefunden; beim Mohnöle kam anstatt der Gruppen eine auffallend ungleiche Verteilung der Punkte vor, was als ein Anfang des Gruppierens angesehen werden kann. — Das Raps-, Rizinus- und Pferdeöl, welche außer der schwarzen Farbe auch deutlich eine braune angenommen haben, zeigten dem freien Auge eine Färbung des Kegels in Gelb; im Ultramikroskope war keine Gelbfärbung zu sehen; eine Färbung des Kegels in Rot war bei diesen Ölen überhaupt nicht zu bemerken.

Zusammenfassung.

1) Das Ultramikroskop eignet sich zur Sicherstellung der Identität und der Reinheit der Öle und zur Prüfung von Ölgemischen.

2) Man prüft die Öle mit dem Ultramikroskope, nachdem man sie durch die Reaktionen mit Edelmetallverbindungen in Oleosole dieser Metalle umgewandelt hat.

3) Bei dem ultramikroskopischen Studium bewährte sich das Zählen der spärlich vorkommenden Punkte und Gruppen im ganzen

Kegel, die Bestimmung von Δ und Φ, das Zählen der mit Kreisen umgebenen Punkte nach dem Heben des Tubus um 20 μ und die gesonderte Untersuchung der ohne Kreise vorkommenden Punkte, der mit Kreisen umgebenen Punkte und der Gruppen, und zwar sowohl ohne den Analysator als auch mit demselben.

4) Bei den ausgeführten Untersuchungen der Handelsöle waren die verschiedenen Formen, unter welchen sich im Ultramikroskope das aus dem Öle ausgeschiedene Fett zeigt, der Betrachtung der Metallteilchen sehr hinderlich und es zeigte sich für die weiteren Arbeiten die Verwendung von Ultramikroskopen mit Heizvorrichtung notwendig.

5) Das Ergebnis der Reaktion wird durch viele Umstände beeinflußt, hauptsächlich durch das Lösungsmittel, die Temperatur, die Bewegung, die Zeit und die Ölmenge. Ein Einfluß von Licht wurde nur bei Silber beobachtet, und zwar ein selbständiger, und keine bloße Abänderung des Verlaufes, der Form und des Grades der Ölreaktion.

6) Die besten Resultate werden beim ultramikroskopischen Prüfen der Öle nach der Reaktion mit Goldchlorid gefunden. Es tritt entweder eine Rotfärbung durch amikroskopische Teilchen ein, oder eine Blaufärbung durch submikro- und mikroskopische Teilchen, welche sich zu einem blauschwarzen Niederschlage sammeln, oder eine Gelbfärbung durch submikro- und mikroskopische Teilchen, welche sich zu einem Goldschimmer und einem goldglänzenden Satze sammeln. Es kann entweder nur eine Form oder zwei oder alle drei zugleich vorkommen.

7) Aus Silberlösungen werden entweder amikroskopische Teilchen gefällt, welche ein Blaufärben des Kegels verursachen, oder submikro- und mikroskopische Teilchen. Außer der Silberreduktion gibt auch die Reaktion mit dem in manchen Ölen enthaltenen Schwefel Kegelfärbungen durch amikroskopische Teilchen.

8) Bei den Reaktionen mit dem Rutheniumchloride kommt entweder eine gelbe oder auch eine rote Kegelfärbung durch amikroskopische Teilchen vor oder es scheiden sich submikro- und mikroskopische Teilchen aus.

9) Die mit Osmiumsäure und mit Platinchlorid ausgeführten Versuche ergaben keine praktisch brauchbaren Resultate und es sind andere günstigere Verhältnisse für die Reaktion und die Prüfung zu suchen.

10) Der gesuchte Zusammenhang des ultramikroskopischen Befundes mit einer in Ziffern ausdrückbaren Eigenschaft oder quantitativen Reaktion wurde nicht gefunden und es zeigte sich, daß es vor allem darauf ankommt, wie fein die Emulsion ist, deren ein Öl mit dem betreffenden Reagens unter den obwaltenden Verhältnissen fähig ist.

[Eingegangen am 5. Dezember 1905.]

[Aus dem Anatomischen Institut der Universität Würzburg.]

Der Anstrich der Richtebene.

Von

Dr. Karl Peter,

a. o. Professor in Greifswald.

Mit Tafel III und IV.

Die Technik der Richt- oder Definierzeichen, welche ein exaktes Aufeinanderlegen der Zeichnungen von Serienschnitten behufs graphischer oder plastischer Rekonstruktion gestatten, ist fast so alt, wie die Rekonstruktionsmethoden selbst.

Ihre Einführung geschah durch Kaschtschenko und Strasser. Anfangs wurden zu diesem Zwecke sehr verschiedenartige Verfahren empfohlen, doch hat sich allein die Idee als lebensfähig erwiesen, den Kontur des Blockes selbst, welcher das Präparat eingebettet enthält, als Richtebene zu benutzen. Nicht als ob die älteren Methoden, über welche Strasser (1887) ausführlich Bericht erstattet, nicht auch zum Ziele führten, — ich selbst habe bei der Herstellung eines Modells aus einer Serie, welche nach Borns Angabe einen Eiweißstreifen als Richtzeichen trug, die Exaktheit dieses Verfahrens sehr schätzen gelernt, — aber sie waren umständlich, nicht leicht zu handhaben und ergaben teilweise recht unvollkommene Resultate. Jetzt wird also allgemein eine zur Schnittrichtung senkrechtstehende, mit Leisten oder Ritzen versehene Fläche des Blockes selbst zur Definierebene gemacht.

Nur selten wird diese Definierebene in das Objekt selbst hineinverlegt; in diesem Falle gibt der Kontur des Schnittes das Richtmerkmal ab, und ein besonderes Hervorheben dieser Linie durch Auftragen einer Farbe ist natürlich unnötig. Meist wird man aber das Präparat nicht verletzen dürfen und muß dann die Richtebene an dem Paraffin- oder Celloïdinblock in einiger Entfernung von dem eingebetteten Objekt anbringen. Dann muß die Definierfläche, um in den Schnitten nach Auflösung des Paraffins oder Eindecken des Celloïdins sichtbar zu sein, mit einem farbigen Überzug versehen werden.

Solcher Farbmassen sind eine große Menge empfohlen worden. Doch konnte bisher kein Anstrich alle Anforderungen erfüllen; ein solcher soll nämlich:

1) im Schnitt eine scharfe, saubere, dunkle Linie geben,
2) die Prozeduren des Nachfärbens der Schnitte aushalten können, und
3) ist größtmögliche Einfachheit der Anwendung erwünscht.

Ich habe nun für eine Technik der Rekonstruktionsmethoden die in der Literatur empfohlenen Verfahren des Färbens der Richtebene sämtlich selbst versucht und bin dabei auf einen für alle Fälle anzuwendenden Anstrich gekommen, der allen drei Forderungen genügen dürfte. Doch bevor ich diesen und seine Vorzüge beschreibe, möchte ich kurz meine Erfahrungen mit den bekannten Farbmassen, die in ihrer Brauchbarkeit durchaus nicht gleichwertig sind, vorlegen. Genügende Resultate geben sie alle, das beweisen schon die vielen, mit ihrer Hilfe angefertigten Modelle; doch sind die meisten nur für Paraffinblöcke verwendbar, einige gestatten das Nachfärben nicht, andere liefern keine scharfen Linien u. s. f. Die Berechtigung einer solchen Zusammenstellung sehe ich in der Kritik der Resultate der Verfahren; die Methoden sind beschrieben worden, der Effekt ist aber meist nicht oder nur kurz erwähnt worden.

Die empfohlenen Farbmassen sind sehr verschiedenartiger Natur. Ich zähle sie nach ihrer Brauchbarkeit auf, wobei Exaktheit der Linie, Einfachheit der Anwendung und Haltbarkeit den Ausschlag geben.

1) Schwarzer Alkohollack für mikroskopische Zwecke von der Firma Hutstein, Breslau, Schmiedebrücke (Born und Peter 1898). Die genaue Zusammensetzung dieser Flüssigkeit ist uns nicht bekannt; es soll eine Lösung von Nigrosin in alkoholischer, mit Dammar versetzter Schellacklösung sein. Vor

dem Gebrauch verdünnt man einige Tropfen mit dem gleichen Quantum absoluten Alkohols. Mit weichem Pinsel, der in die Flüssigkeit getaucht wurde, fahre man einmal über die Richtebene. Dieser Farbüberzug darf nur ganz dünn sein, das Paraffin soll bläulich durchscheinen, und auch das eingeschlossene, der Definierebene nahe anliegende Objekt muß sichtbar bleiben. Je dünner man den Lack aufträgt, desto zarter ist im Schnitt die Linie. Der Lack trocknet schnell, doch habe ich es für gut befunden, den Block einige Stunden stehen zu lassen, ehe ich ihn wieder in erhitztes Paraffin tauche, um den sekundären, schützenden Paraffinüberzug herzustellen. Dieser haftet der Ebene gut an.

Die Definierlinie ist im Schnitt sehr dunkel, scharf und sauber, übertrifft an Zartheit sogar noch den unten zu erwähnenden englischen Lack.

Leider ist diese schwarze Farbe außerordentlich empfindlich gegen Alkohol und Wasser; ihre Anwendung beschränkt sich demnach auf nicht nachzufärbende Präparate. Aber auch für diese Fälle habe ich eine Anzahl von Vorsichtsmaßregeln, welche ein Gelingen garantieren, ausprobieren müssen. Denn einige Male blich mir die Richtebene im Xylol oder gar erst noch im Kanadabalsam aus. Es stellte sich heraus, daß das Xylol nicht rein war, und daß der Balsam in nicht ganz reinem Xylol gelöst war. Seitdem ich die Schnitte in reinem Xylol von Paraffin befreie und in demselben auch den Balsam oder das Dammarharz auflöse, habe ich keine Mißerfolge mehr zu verzeichnen gehabt; die Richtlinie hat Jahre hindurch ihre tiefschwarze Farbe behalten.

Diese Flüssigkeit ergibt also die schönsten Definierlinien, dürfte aber wegen der Empfindlichkeit und beschränkten Anwendungsmöglichkeit durch den unten zu besprechenden Nubian Blacking verdrängt werden.

2) Die Schuhlacke Indian Blacking und Nubian Blacking empfahl ich (1899 und 1903), weil leichter zu erhalten, an Stelle des Alkohollacks von Hutstein. Ersteren habe ich nicht mehr bekommen, über Nubian Blacking siehe unten; da ich diesen damals nur als Ersatz für den Alkohollack gebrauchte, so machte ich keine Versuche mit nachgefärbten Schnitten und wurde auf seine allgemeine Verwendbarkeit nicht aufmerksam.

3) Eine saubere Richtlinie erhält man auch, wenn man nach Borns (1888) Vorschlag Bismarckbraun in eine dünne, alkoholische Schellacklösung schüttelt und die Farbe auf die Definier-

fläche aufträgt. Der Überzug löst sich in Alkohol, verträgt also kein Nachfärben der Schnitte.

4) Strasser (1887) füllte die Ritzen der Richtebene mit der Paste der blauen Glasschreibstifte von Faber aus. Diese Masse gab mir sehr gute Resultate; ich schnitt sie aus den Stiften heraus, löste sie in Chloroform und bestrich damit dünn die Definierfläche. Es ist noch nötig, wie Strasser auch angibt, die Paste mit einer dünnen alkoholischen Schellacklösung zu fixieren, da sonst die Farbe nicht hält. Hat man aber die Fixierung vorgenommen, so erhält man im Schnitt eine sehr scharfe, dunkelblaue Linie. Die Schnitte lassen sich nachfärben, ohne Schädigung für die Richtlinie; auch auf Celloïdin haftet die Farbmasse, die man auf die abgetrocknete Fläche des Blockes aufstreicht; die Celloïdinschnitte können ebenfalls nachgefärbt werden.

Ein wenig umständlicher als die Lackarten ist die Verwendung dieser Paste doch, da sie erst gelöst und dann fixiert werden muß.

5) Schwarze Ölfarbe ist von Kaschtschenko (1886 und 1887) und von Strasser (1887) angewendet worden.

a. Der russische Forscher verdünnte die Ölfarbe „Lampenschwarz“ mit Terpentin (anfangs empfahl er aufs zehnfache zu verdünnen, später nur einen geringen Zusatz zu nehmen) oder Xylol. Mit dieser Masse bestrich er die Richtebene, ließ trocknen und hüllte sie in den sekundären Paraffinüberzug ein. Fixation wird nicht erwähnt. Diese Richtlinie hält das Nachfärben der Schnitte unverändert aus, ist aber nicht besonders scharf, sondern ähnelt den mit Ruß hergestellten Definierlinien. Auch bleibt die Farbe, wenn der sekundäre Paraffinüberzug sich beim Schneiden ablöst, was mir hier vorgekommen ist, nicht völlig auf der Richtebene haften, sondern klebt zum Teil an dem abgehobenen Paraffin, so daß die Linie doppelt erscheint; dies ist wohl auf Rechnung des mangelnden Fixierens zu schieben.

b. Komplizierter ist Strassers Vorschrift: „Einreiben der Abguß-(Richt-)fläche mit dunkler Ölfarbe (Lithographenschwarz z. B.) von der Konsistenz der Tubenfarben; Reinigen der Hauptfläche durch vorsichtiges Abwaschen mit einer Mischung von Glyzerin und Alkohol, Trocknenlassen, Firnissen mit sehr verdünnter alkoholischer Schellacklösung.“ Das Einreiben der Definierfläche wird man wohl besser durch das schonendere Bestreichen mit einem weichen Pinsel ersetzen. Das Resultat ist das gleiche wie bei Kaschtschenkos Methode: eine bröckelige, unscharfe Richtlinie,

welche das Nachfärben aushält; ein Vorzug vor derselben ist das Firnissen, wodurch die Farbe an der Fläche festgehalten wird, ein Nachteil die Umständlichkeit des Verfahrens.

6) Auch schwarze Temperafarbe (Neutralschwarz) ist empfohlen worden. Ich habe selbst eine brauchbare Anwendungsweise beschrieben (1898), die ich mit Professor Born ausprobiert hatte. Es werden 10 Tropfen Mayerscher Klebmasse aus frischem Hühnereiweiß, 1 Tropfen einprozentige Essigsäure und Neutralschwarz soviel, daß die Mischung dünnflüssige Konsistenz erhält, verrieben und auf die Richtfläche aufgetragen. $^1/_4$ Stunde Trocknen auf dem Wärmeschrank, Tauchen in absoluten Alkohol, abermaliges Trocknen $^1/_4$ Stunde lang, Firnissen mit Schellackfixativ, Trocknen, sekundärer Paraffinüberzug. Die Methode hat mir beim Modellieren gute Dienste geleistet; beim Nachfärben leidet die Richtlinie nicht. Doch ist dieselbe auch nicht sehr sauber, wenngleich etwas exakter als bei Anwendung der Ölfarbe, und so habe ich das komplizierte Verfahren verlassen zugunsten anderer einfacherer.

7) Vielfach ist Ruß zur Herstellung einer Definierlinie, welche beim Nachfärben der Schnitte nicht leidet, benutzt worden. Alle diese Verfahren leiden darunter, daß ein Hantieren mit Ruß immer Unsauberkeiten im Gefolge hat. Auch kann die Linie sich an Exaktheit nicht mit der durch Lack hergestellten messen. Es ist nicht immer zu vermeiden, daß Partikelchen des Rußes sich loslösen und die Schnitte verunreinigen. Zumal beim Nachfärben geht stets etwas von dem Ruß verloren und macht die Linie unvollständig. Die Schnitte müssen übrigens mit Eiweiß-Glyzerin aufgeklebt werden, da der Ruß sonst nicht haftet.

Ruß stellt man sich nach der „Enzyklopädie der mikroskopischen Technik" am besten selbst her, indem man Terpentinöl oder Kampfer verbrennt und den Ruß mittels einer Glas- oder Metallglocke auffängt.

a. Am saubersten und beständigsten wird die Richtlinie noch, wenn man mit Neumayer (1890) den Ruß mit etwas Zaponlack mischt. So läßt sich eine zarte, ziemlich gleichmäßige, das Nachfärben gut aushaltende Richtlinie herstellen. Ein in Zaponlack getauchter Pinsel mengt die Flüssigkeit mit dem auf der Platte befindlichen Kohlenstaub und trägt die Farbe in dünner Schicht auf die Richtebene auf.

b. Roethig (1904) nimmt in gleicher Weise Kampferruß mit Chloroform auf. Die angestrichene Richtebene läßt er 24 Stunden trocknen. Die Linie ähnelt der mit Zaponlack hergestellten.

c. Born (1888) brachte anfangs den Ruß trocken, mittels eines quer abgestutzten dicken Pinsels, auf die Richtfläche, bestäubte die Ebene mit einer dünnen alkoholischen Schellacklösung und bestrich sie dann noch einmal mit derselben Flüssigkeit. Das Schellackhäutchen trocknet in 5—10 Minuten. Die Richtlinie, welche ich auf diese Weise hergestellt habe — nur habe ich den Schellack gleich vorsichtig aufgestrichen — gibt den eben erwähnten wenig nach.

d. Später zog Born (Born und Peter 1898) eine Aufschwemmung von Ruß in einprozentiger Celloïdinlösung vor, nach Gaupps Vorschrift. Entweder wird Ruß mit einem Pinsel im Uhrschälchen mit Celloïdinlösung, die durch Alkohol absolutus verdünnt ist, gemischt und damit die Richtebene bestrichen, oder Ruß wird in einprozentige Celloïdinlösung geschüttet, ordentlich umgeschüttelt und mittels Zerstäubers auf die Definierfläche geblasen. In beiden Fällen empfiehlt es sich die angetrocknete Fläche noch mit einer Schicht Schellackfixativ zu bedecken, welche das Anhaften des sekundären Paraffinüberzugs begünstigt. Die Richtlinie ist ziemlich grob und bröckelig, teilt also die Nachteile jeder Rußlinie.

8) Endlich muß ich noch eine Farbmasse erwähnen, die Professor Born und ich anwandten, um die Richtfläche von Celloïdinblöcken anzustreichen, (Born und Peter 1898) übrigens ist dieselbe auch für Paraffinblöcke verwendbar. 10 Teile Preußischblau werden mit 50 Teilen Terpentinöl verrieben und mit 150 Teilen Äther aufgenommen. Die etwas getrocknete Definierebene wird damit dünn bestrichen. Da es uns früher nicht gelingen wollte, einen anderen brauchbaren Anstrich für Celloïdin zu erhalten, so benutzten wir diese Farbe trotz zweier Unannehmlichkeiten: bei der Herstellung ist nämlich ein Verstreuen des Preußischblau nicht zu vermeiden; auch setzt sich der Farbstoff nach einigen Monaten ab, ohne daß man durch Schütteln wieder die ursprüngliche Flüssigkeit herstellen könnte. Die Linie ist scharf und ähnelt der mit der Faberschen Glasstiftpaste angefertigten.

Zählen wir die besprochenen Farbmassen nach dem Grade ihrer Anwendbarkeit auf, so sind:

1) für alle Fälle, für Paraffin und Celloïdin empfohlen worden
   a. die Paste der blauen Faberschen Glasstifte,
   b. Preußischblau in Äther.
2) Nur für Paraffinblöcke ist verwendbar:
   a. mit Möglichkeit des Nachfärbens

α. Ölfarbe nach Kaschtschenko oder Strasser,
β. Temperafarbe,
γ. Ruß in verschiedenen Anwendungsformen.

b. ohne Möglichkeit des Nachfärbens
α. Alkohollack,
β. Schellacklösung mit Bismarckbraun.

Die Flüssigkeit nun, welche ich für alle Zwecke, für Paraffin- oder Celloïdinblöcke geeignet halte, ist ein Schuhlack „Nubian Waterproof Blacking“, den ich schon früher an Stelle des Hutsteinschen Alkohollackes empfohlen hatte. Das Präparat ist englischer Herkunft (prepared by the Nubian Manufacturing Co., Ltd., Lorrimore Buildings, Lorrimore St., London S. E.) und in den größeren Schuhwarengeschäften zu haben; auch hat sich Herr Dr. Grübler-Leipzig auf meine Bitte hin freundlichst bereit erklärt, den Lack vorrätig zu halten. Wegen des schnellen Trocknens bewahre man den Lack luftdicht verschlossen auf, gieße ihn also aus der Originalflasche in eine andere mit engem Hals, welche fest verkorkt wird.

Die Anwendungsweise ist höchst einfach. Man taucht einen feinen, weichen Pinsel in die Flasche, streicht ihn etwas ab und fährt schnell einmal über die Definierebene des Paraffinblocks oder des etwas abgetrockneten Celloïdinblocks herüber. Der Überzug soll ganz dünn sein — auch hier wird die Richtlinie um so eleganter, je feiner der Lack aufgetragen wird —, er soll das Paraffin durchscheinen lassen, darf also nur grau erscheinen. Er trocknet fast augenblicklich, und schon nach wenigen (5) Minuten kann man den sekundären Paraffinüberzug über den Block anfertigen. Derselbe haftet, wenn das Paraffin die richtige Temperatur (75°) hat, fest an Block und Definierebene. Vor dem Auflösen des Paraffins aus den Schnitten muß der Objektträger in absoluten Alkohol getaucht werden, da die Linie sich sonst kräuseln kann. Im übrigen ist die Behandlung der Schnitte durchaus die gewöhnliche.

Im Schnitt erscheint die so hergestellte Richtlinie als scharfe, schwarze Zackenlinie, welche sehr genau nachgezeichnet werden kann. Sie ist ein wenig dicker, vielleicht auch etwas heller, als die mit dem Hutsteinschen Alkohollack angefertigte, so daß letztere für nicht nachzufärbende Präparate noch vorzuziehen wäre; indes bestimmt mich die Empfindlichkeit des Hutsteinschen Lackes und der Wunsch, einen für alle Fälle anwendbaren und allen Ansprüchen genügenden

Anstrich der Richtebene zu besitzen, den Nubian Waterproof Blacking als allgemein brauchbaren Überzug der Definierebene zu empfehlen.

Dies wird bewiesen durch die Verschiedenartigkeit der Behandlung, der ich die Präparate unterwerfen konnte, ohne daß die Richtlinie gelitten hatte. Ich habe sowohl Versuche an Paraffin- als auch an Celloïdinblöcken angestellt.

I. Paraffinblöcke. Die Schnitte wurden mit Wasser oder mit Eiweiß-Glyzerin und Wasser auf den Objektträger aufgeklebt. Darauf wurde das Präparat ohne Nachfärbung eingedeckt oder mit Hämatoxylin-Eosin oder Pikrokarmin nachgefärbt. Ich ließ die Schnitte absichtlich tagelang in Alkohol oder Wasser, ohne eine Veränderung an der Linie wahrzunehmen. Dabei sei bemerkt, daß ich das früher empfohlene Überstreichen der angeklebten Schnittserien mit Strassers Rizinusöl-Kollodium jetzt unterlasse.

II. Celloïdin. Auch die Celloïdinschnitte deckte ich ohne Färbung ein oder führte sie durch Hämatoxylin-Eosin. Die Linie behielt ihre Farbe. Eigentlich bedarf ja nach einer Hämatoxylinfärbung der Celloïdinblock keinen Anstrich mehr, da durch dieselbe das Celloïdin selbst einen leichten Ton erhält, und sein Rand deutlich sichtbar ist, doch kann man der Sicherheit wegen noch den Lack auftragen.

Figur 1 und 2 auf Tafel III und IV zeigen Schnitte durch Eidechsenembryonen, welche Richtlinien, mittels Nubian Blacking hergestellt, besitzen. Die Embryonen wurden mit Boraxkarmin durchgefärbt und in Paraffin eingebettet. In Figur 1 sind bei etwa zwölffacher Vergrößerung mehrere Schnitte einer Sagittalserie abgebildet, welche mit Eiweiß-Glyzerin-Wasser aufgeklebt und mit Hämatoxylin-Orange nachgefärbt wurden. Jeder Schnitt besitzt eine gleich scharfe Definierlinie. Figur 2 zeigt einen Schnitt durch eine andere Serie bei stärkerer Vergrößerung; er ist nicht nachgefärbt worden. Die Photogramme zu diesen Abbildungen verdanke ich der Freundlichkeit von Herrn Professor Sobotta, dem ich auch hier für seine bereitwillige Hilfe herzlich danke.

Nubian Waterproof Blacking empfiehlt sich also:

1) Durch die Schärfe und Sauberkeit der Richtlinie, welche besonders die der Rußsuspensionen bedeutend übertrifft;
2) Der Lack ist für alle Fälle anwendbar: für Paraffin- wie für Celloïdinblöcke, bei Stückfärbung, wie Schnittfärbung, bei Aufkleben

der Paraffinschnitte mittels Wasser oder Eiweiß-Glyzerin und Wasser;

3) Endlich ist die Anwendungsweise die denkbar einfachste.

Somit erfüllt dieser Lack die eingangs aufgestellte Forderung; speziell möchte ich noch darauf aufmerksam machen, wie einfach die Prozedur bei nachzufärbenden Objekten wird, welche früher einen umständlichen und schmutzenden Rußüberzug verlangten.

Verzeichnis der zitierten Literatur.

1888. Born, G., Noch einmal die Plattenmodelliermethode (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. V).

1898. Born, G., u. Peter, K., Zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien (Ebenda Bd. XV).

1886. Kaschtschenko, N., Methode zur genauen Rekonstruktion kleiner makroskopischer Gegenstände (Arch. f. Anat. u. phys.-anat. Abt.).

1887. Derselbe. Die graphische Isolierung (Anat. Anz. Bd. II).

1899. Neumayer, L., Studie zur Entwicklungsgeschichte des Gehirnes der Säugetiere (Festschrift f. Kupffer).

1898. Peter, K., Die Entwicklung und funktionelle Gestaltung des Schädels von Ichthyophis glutinosus (Morph. Jahrb. Bd. XXV).

1899. Derselbe. Demonstration des Born-Peterschen Verfahrens zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien (Verhandl. Anat. Gesellsch. Tübingen).

1903. Derselbe. Artikel „Plastische Rekonstruktion" in Enzyklopädie der mikroskopischen Technik.

1904. Roethig, P., Handbuch der embryologischen Technik. Wiesbaden.

1887. Strasser, H., Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. IV).

Greifswald, den 20. Oktober 1905.

[Eingegangen am 21. Oktober 1905.]

[Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Padova. Diretto dal Prof. A. Bonome.]

Per la colorazione delle cellule cromofile dell'Hypophysis cerebri.

Nota di tecnica istologica

del

Dr. Giovanni Cagnetto,
aiuto e libero docente.

L'estensione acquistata in questi ultimi tempi dalle ricerche anatomiche e sperimentali sull'hypophysis cerebri ha fatto sentire negli istologi più vivo il bisogno di un metodo facile e rapido, che serva alla dimostrazione di quelle cellule cromofile, sulla cui presenza sembra imperniarsi, per consenso ormai generale, la funzione della parte glandolare di quest'organo tuttora così enigmatico.

Il più semplice degli artifici ancora in uso è quello stesso che ha servito al Flesch,[1] nei suoi vecchi studi sulla glandola pituitaria, per differenziare l'una dall'altra le due varietà fondamentali di cellule del lobo glandolare: le cellule cromofile e le cromofobe. È il metodo molto elementare e comodo della colorazione del tessuto con l'ematossilina-eosina.

Col perfezionarsi della tecnica microscopica altri metodi più delicati e più spiccatamente specifici entrarono nell'uso comune degli istologi. In Italia, ad es., ebbero larga applicazione e buona fortuna quelli del Vassale[2] e del Galeotti[3]; in Germania particolarmente il metodo di Benda[4], il quale del resto ha trovata anche nel nostro paese tutt'affatto recentemente la migliore accoglienza.

[1]) Flesch, Tageblatt der 57. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Magdeburg, 1884.

[2]) Vassale, Rivista sperimentale di Freniatria, 1901, Fasc. 3—4, p. 1078.

[3]) Galeotti, Arch. f. mikrosk. Anatomie Bd. XLVIII, 1896, p. 305.

[4]) Benda, Neurologisches Zentralblatt, 1900, p. 786.

Impegnato da qualche tempo in alcune ricerche sistematiche di fina anatomia sul lobo glandolare della pituitaria nello stato normale e patologico, ho cercato apportare ai metodi tecnici ora in uso modificazione tale, che conciliasse in essi l'economia dei reagenti con la celerità del procedimento di colorazione. Di questa desiderata semplificazione di metodo ho avuto modo di valutare particolarmente i vantaggi in quei casi nei quali gli artifici di colorazione universalmente adottati non rispondevano perfettamente allo scopo o in quelli altri nei quali mi premeva il bisogno di un ragguaglio sollecito e sicuro intorno allo stato di maggiore o minore attività funzionale del tessuto glandolare dell'ipofisi su preparati in serie. Siccome penso che molti di coloro che si occupano al dì d'oggi di questioni attinenti l'istologia della glandola pituitaria si sieno già trovati o possano trovarsi, nel corso delle loro indagini, in circostanze analoghe alle mie, non credo del tutto superfluo il dedicare poche parole all'esposizione del metodo ch'io da qualche tempo seguo nelle mie ricerche.

Io soglio fissare una metà dell'ipofisi umana in soluzione di formolo commerciale al 10 $^0/_0$ per 3—4 giorni, rinnovando il liquido dopo le prime 24 ore ed anche prima, se si è fatto rossigno. Il pezzo tolto dal formolo e lavato in acqua corrente per qualche minuto, viene tosto immerso in una soluzione acquosa diluita di acido cromico al 0,1 $^0/_0$ per due giorni e in nuova soluzione cromica al 0,25 $^0/_0$ per altri due giorni, possibilmente esponendo il liquido, durante questo tempo, in termostato alla temperatura di 37^0. La formula di fissazione non varia dal metodo già ricordato del Benda, se non per quanto riguarda la titolazione della soluzione cromica, ch'io credo eccessiva se portata al 0,50 $^0/_0$, come il Benda prescrive. L'acido cromico molto diluito penetra più profondamente nel tessuto, poichè non determina, alla superficie del pezzo, la formazione di quella crosticina coriacea, impermeabile, che inevitabilmente si costituisce allorquando il titolo della soluzione cromica è un po'alto: in tal caso è facile infatti constatare che l'impregnazione del pezzo si limita al solo strato più superficiale, senza raggiungere le parti profonde. Al contrario, con l'acido cromico diluito si ottiene in ogni caso una uniforme e completa impregnazione del tessuto anche se il pezzo è discretamente voluminoso (2—3 cm quadrati di larghezza per 3—4 mm di spessore).

Dopo la cromizzazione il pezzo va lavato in acqua fino a che non ceda quasi più acido cromico (30—40 ore), ed in seguito

vien passato attraverso alla serie degli alcool fino a disidratazione, chiarificato in xilolo ed incluso in paraffina.

A tal punto l'ipofisi sarebbe pronta per applicarvi la colorazione del Benda all'alizarinato di soda e bleu di toluidina: però io preferisco procedere diversamente.

Le sezioni microtomiche sottili, attaccate al portaoggetti con albume glicerinato molto diluito (goccie 2 in un ditale d'acqua), son colorite per 5'—10' con una soluzione satura acquoso-anilinata di fuxina acida e riscaldate nel frattempo cautamente alla fiamma di una lampada a spirito finchè si sollevano i primi vapori. Quando il portaoggetti è freddo, si toglie la fuxina con un filo d'acqua e si differenzia per 4'—5' mediante una soluzione acquosa, satura a freddo, di acido picrico. È opportuno, durante il differenziamento, impartire al portaoggetti leggieri movimenti di oscillazione laterale così da agevolare la decolorazione della sezione, procurando che essa rimanga bagnata costantemente da soluzione picrica fresca. Disponendo di sezioni un po' spesse è utile procedere al differenziamento sotto l'azione di un temperato calore, tenendo il preparato, ad es., sopra una lampada Bunsen ad una certa altezza dalla fiamma: lo stesso risultato con un po' di pazienza, impiegando qualche minuto di più, lo si ottiene del resto anche col differenziamento a freddo. Allorquando la sezione ha acquistato un color rosso-mattone leggermente tendente al gialliccio, si toglie la soluzione picrica sotto il filo d'acqua e si vede tosto, durante il lavaggio, il color rosso-mattone trasformarsi in rosso chiaro. È questa la tinta confaciente: qualora il preparato dopo il lavaggio risultasse colorito ancora troppo intensamente, converrebbe prolungare il differenziamento fino ad ottenere la tinta voluta.

In seguito si disidrata rapidamente con alcool assoluto, asciugando la sezione con carta bibula, si rischiara con lo xilolo e si monta in balsamo.

Io sento di poter affermare con tutta sicurezza che l'applicazione del metodo di colorazione suesposto all'ipofisi fissata in formolo-acido cromico rappresenta, per il rilievo delle cellule cromofile, un procedimento meno infido sia del metodo originale del Benda che di quello stesso del Galeotti, ch'è così prezioso per altri dettagli citologici dell'ipofisi. A me, ripeto, è accaduto spesso di veder colorite distintamente le cellule cromofile di ipofisi, nelle quali i suindicati metodi mi avevan dato risultato incerto e preparazioni di complesso poco dimostrative.

Il procedimento da me adottato, oltre che avere il doppio pregio

dell'economia nel fissatore e della rapidità nella colorazione, ha sugli altri due sopradetti una decisa superiorità: quella di dare *a colpo d'occhio* all'osservatore una sicura nozione del numero delle cellule cromofile esistenti in una data sezione di ipofisi. Con esso si colorano, infatti, specificamente in rosso-vivo brillante le sole cellule cromofile: le cellule pallide, prive di granulazioni protoplasmatiche, prendono una tinta caffè-latte, il connettivo una tinta rosa, come nel metodo di v. Gieson, e le emazie un colore aranciato cupo. La constatazione della quantità, sia pur approssimativa, degli epiteli granulosi presenti in un preparato di ipofisi riesce perciò oltremodo facile, impiegando a tal uopo un obbiettivo di media potenza, come, ad es., il No. 5 Koristka o anche un obbiettivo di minor forza.

Questo trattamento ha eziandio il vantaggio di dare buoni risultati anche nelle mani di un tecnicista poco esperto: esso riduce il metodo di colorazione delle cellule cromofile ad una pratica assolutamente elementare, evitando le lungaggini e le difficoltà del metodo di Benda, che abbisogna di una certa maturità nel preparatore, e quelle non sempre facilmente superabili del metodo originale del Galeotti alla fuxina e verde di metile.

Riassumo qui in forma cronologica e sintetica il procedimento.

1º Fissazione di una metà dell'ipofisi in formolo commerciale al 10% per 3—4 giorni.

2º Passaggio in soluzione cromica al 0,10% per due giorni ed al 0,25% per altri due giorni.

3º Lavaggio prolungato in acqua.

4º Serie degli alcool fino a disidratazione.

5º Xilolo.

6º Paraffinazione.

7º Trattamento delle sezioni sparaffinate, a caldo, per 5′—10′ con soluzione acquoso-anilinata satura di fuxina acida. Si prepara il liquido in questo modo. Si sciolgono a caldo (70º—80º) in una capsula di porcellana, cc 3 di olio di anilina in cc 100 di acqua distillata e, lasciata raffreddare la soluzione, la si versa a poco a poco in un mortaio contenente gr 2 di fuxina acida finemente polverizzata. Si adopera la miscela colorante dopo 24 ore, previa filtrazione.

8º Lavaggio in acqua corrente.

9° Differenziamento per 4′—5′ con una soluzione acquosa satura a freddo di acido picrico.

10° Nuovo lavaggio in acqua corrente.

11° Rapida disidratazione in alcool assoluto; xilolo e balsamo del Canadà.

Il metodo si presta bene anche pel rilievo, nella tiroide, delle cosidette Kolloidzellen di Langendorff ed inoltre per lo studio delle isole di Langerhans del pancreas, le quali spiccano sul resto del tessuto per un bel color rosso-vivo, al pari dei nidi di cellule cromofile dell' ipofisi.

[Eingegangen am 30. Dezember 1905.]

Referate.

1. Mikroskop und mikroskopische Apparate.

Abbe, E., Gesammelte Abhandlungen. Band II. (Wissenschaftliche Abhandlungen aus verschiedenen Gebieten, Patentschriften, Gedächtnisreden.) Jena (Gustav Fischer) 1906; IV + 346 pp., 7 Tfln. u. 16 Fig. i. Text. geb. 9 M.

Der Herausgeber Dr. E. Wandersleb hat in diesem Bande die wissenschaftlichen Arbeiten Abbes gesammelt, die im Gegensatze zu den Abhandlungen des ersten Bandes nicht speziell dem Gebiete der Mikroskopie angehören. Neben Abbes erster wissenschaftlicher Publikation, seiner Dissertation, enthält der vorliegende Band eine Reihe von Veröffentlichungen astronomischen und astrophysikalischen Inhalts, Arbeiten über einige für den Physiker, speziell für den Optiker bestimmte Meßinstrumente; so z. B. die Beschreibung des Spektrometers, des Refraktometers und des Fokometers; ferner zehn Patentschriften, die zwar von der Firma C. Zeiss eingereicht worden sind, aber von Abbe herrühren, und schließlich drei Gedächtnisreden, nämlich auf Joseph Fraunhofer, Carl Zeiss und Hermann Schäffer. Für den Mikroskopiker von besonderem Interesse ist eine Arbeit über die Berechnung des wahrscheinlichen Fehlers bei der Bestimmung von Mittelwerten durch Abzählen.

Henker (Jena).

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Böhmer, C., Anleitung zur Untersuchung landwirtschaftlich wichtiger Stoffe. Zum Gebrauch in landwirtschaftlichen und agrikulturchemischen Laboratorien und für die Praxis zusammengestellt und bearbeitet. Berlin (P. Parey) 1906. 135 pp. 3·50 M.

Ein vielseitiges Büchlein, das in anerkennenswerter Kürze über erprobte Methoden zur Untersuchung landwirtschaftlich wichtiger Stoffe berichtet. Mechanische und chemische Bodenanalyse, die Untersuchung der künstlichen Düngemittel (Phosphorsäure-, Stickstoff-, Kalk-, Kalibestimmung), der Futtermittel und der Milch und die Bestimmung des Zuckergehalts der Rübe werden besprochen. — Hier und da wird auch das Mikroskop zu Rate gezogen.

Küster (Halle a. S.).

Stoeltzner, W., Über Metallfärbungen verkalkter Gewebeteile (Virchows Arch. Bd. CLXXX, 1905, H. 2, p. 362—365).

Verf. hat im Jahre 1900 zusammen mit Salge Untersuchungen darüber angestellt, welche Resultate man erhält, wenn man histologische Schnitte denjenigen Manipulationen unterwirft, die man in der Photographie anwendet, um an belichteten Chromsilberplatten das photographische Bild hervorzurufen. In der damaligen Veröffentlichung ist es unterlassen worden, mitzuteilen, was die Methode für Verkalkungen leistet. Da die Resultate hierbei gerade sehr gute waren, so veröffentlicht Verf. jetzt die Methode: Die Schnitte kommen aus destilliertem Wasser auf 5 Minuten in ein zweites Schälchen mit destilliertem Wasser, in dem man einige Tropfen einer Lösung von Silbernitrat verteilt hat. Nach Abspülen in destilliertem Wasser überträgt man die Schnitte in eine dünne Lösung von z. B. Pyrogallol, in welcher augenblicklich die Silberfärbung der verkalkten Stellen hervortritt. Verf. hat nun diese früheren Untersuchungen dadurch ausgedehnt, daß er versuchte, ob nur das Silber oder auch andere Metalle eine ähnliche Affinität besitzen. Es wurden zu diesem Zwecke die Schnitte mit der wässerigen Lösung irgendeiner Metallverbindung behandelt und dann nach gründlichem Auswaschen in

destilliertem Wasser der Einwirkung eines Reagens ausgesetzt, das mit der betreffenden Metallverbindung einen charakteristischen, möglichst dunklen Niederschlag gibt. Es ergab sich, daß alle untersuchten Metalle (Silber, Blei, Kobalt, Kupfer, Eisen) eine starke Affinität zu verkalktem Gewebe haben, daß also die Affinität des Silbers nur einen speziellen Fall einer viel allgemeineren Erscheinung darstellt. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Halphen, G., et **Riche, A.**, Contribution à l'étude des teintures histologiques (C. R. Acad. Sciences Paris t. CXL, 1905, no. 21, p. 1408—1410).

Die Verff. haben versucht, unsere jetzigen Färbungsprozesse durch Versuche vom chemischen Standpunkte aus zu erklären. Zu diesem Zwecke haben sie die Einwirkung von Farbstoffen auf Schnitte von verschiedenen tierischen Geweben nach Alkoholhärtung untersucht, indem sie immer auf dieselbe Weise arbeiteten: der Farbstoff wurde in dem Tausendfachen seines Gewichtes an Wasser gelöst und die Färbung wurde direkt in dieser Farblösung, bei gewöhnlicher Temperatur ausgeführt. Der Überschuß an Farbstoff wurde durch Wasser entfernt; entwässert wurde nicht mit Alkohol, welcher die Farbstoffe löst, sondern mit einer Mischung von einem Volumenteil absoluten Alkohols und 3 bis 4 Volumenteilen Petroläther, eine Mischung, die das Wasser auszieht, ohne den Farbstoff in merkbarer Weise zu lösen. Es ergab sich, daß die Zufügung von geringen Säuremengen zu Lösungen von „sauren“ Farbstoffen deren färberische Fähigkeit erhöht; ebenso wurde bei den basischen Farbstoffen die Färbbarkeit durch geringe Mengen von Alkali erhöht. Indem die Verff. diese Tatsachen praktisch verwendeten, gelang es ihnen, mit demselben Farbstoffe verschiedene elektive Färbungen auszuführen und auch mit sauren Farbstoffen Färbungen zu erhalten, welche man gewöhnlich nur mit basischen Farbstoffen erhält, besonders eine elektive Färbung der Nucleïnsäuren der Zellkerne mit sauren Farbstoffen. Diese Resultate erklären sich leicht, wenn man an die gleichzeitig sauren und basischen Eigenschaften (propriétés) der Albuminoide denkt. Da jeder Farbstoff ein Salz des färbenden Prinzipes ist, je nachdem sauer oder basisch, so muß das Prinzip sich unter bestimmten Bedingungen auf der wirksamen basischen oder sauren Gruppe des Albuminoids fixieren können, und diese Bedingungen hängen ab von der resp. Kraft dieser wirksamen Gruppen, von ihrem gegenseitigen Einflusse und von dem Stabilitätsgrade des

Salzes, welches den Farbstoff darstellt. Diese Stabilität aber des Farbstoffes kann leicht verändert werden, wenn man die Zusammensetzung des Farbstoffbades ändert. Wenn man z. B. eine mineralische Base auf eine basische Farbe einwirken läßt, so wird das färbende Prinzip frei zu werden suchen und infolgedessen leichter eine Verbindung mit dem sauren Radikal des Albuminoids eingehen, daher dann eine stärkere Färbung. Wenn man umgekehrt die Lösung eines sauren Farbstoffes ansäuert, so wird das frei gewordene Prinzip sich leichter auf dem basischen Teile des Albuminoids fixieren. Legt man in dasselbe Farbbad die die tierischen Gewebe bildenden Stoffe, so kann man feststellen, daß sie in verschiedenem Maße die Fähigkeit besitzen den Farbstoff zu fixieren. Man kann daraus schließen, daß die sauren und basischen Gruppen der verschiedenen Albuminoide verschiedene chemische Kraft besitzen. Es folgt daraus, daß die Untersuchung der Färbungsbedingungen zu der Feststellung ihrer relativen Werte führen muß. Um diese Werte abzuschätzen, haben die Verff. die Wirkung festzustellen versucht. welche die Fixierungs- und Härtungsflüssigkeiten, die gewöhnlich verwendet werden, auf die Gewebe ausüben. Sie haben so gefunden, daß das Formol und die Müllersche Flüssigkeit die Kraft der Einwirkung der sauren und basischen Gruppen der Albuminoide wesentlich verändern; dasselbe gilt, wenn auch in geringerem Grade, für den Alkohol und die Wärme. Man mußte daher versuchen, die Gewebe auf andere Weise zu härten als man es gewöhnlich in der Histologie tut. Die Verff. haben die Organstückchen daher bei gewöhnlicher Temperatur unter Glocken getrocknet, indem sie Wasser anziehende Substanzen wie Glyzerin oder noch besser Schwefelsäure gleichzeitig unterstellen und eventuell noch Chloroform, um durch dieses die Mikroben zu töten. Von solchen Präparaten angefertigte Schnitte unterscheiden sich wesentlich von denen, die man nach den gewöhnlichen Methoden erhält. Einige von ihnen entfärben allmählich das Fuchsin, mit welchem sie zuerst gefärbt worden sind; sie verlieren diese Eigenschaft, wenn man sie vor der Färbung in Alkohol legt. Diese Erscheinungen scheinen abhängig zu sein von der Gegenwart von proteolytischen Fermenten in den Präparaten. welche fehlen, wenn man die Härtung durch Alkohol bewirkt hat. Die Verff. heben schließlich hervor, daß in den Schnitten von in der oben angegebenen Weise getrockneten Präparaten weder Kerne noch Zellen irgendwelcher Art direkt oder nach Färbung zu sehen sind, während diese Elemente in den nämlichen Schnitten sofort auf-

treten, wenn man sie vorher mit Alkohol behandelt. Die Verff. werden ihre Studien fortsetzen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Mark, E. L., A paraffine bath heated by electricity (American Natural. vol. XXXVII, 1903, no. 434, p. 115—119 w. 2 figg.).

Verf. beschreibt ein durch Elektrizität erwärmtes Paraffinwasserbad, dessen Konstruktion durch zwei Abbildungen erklärt wird. Es muß hier dieserhalb auf das Original verwiesen werden. Es kostet ein solches Bad inklusive der zur Erwärmung dienenden elektrischen Rollen 25 bis 30 Dollar. Geliefert werden solche Apparate von Clark and Mills 23 Church St., Cambridge und 543 Boylston St., Boston. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Růžička, V., Über tinktorielle Differenzen zwischen lebendem und abgestorbenem Protoplasma (Pflügers Arch. Bd. CVII, 1905, H. 10—12, p. 497—534).

Verf. hebt hervor, daß bis jetzt zwei Methoden angegeben worden sind, die zur tinktoriellen Differenzierung zwischen lebendem und totem Protoplasma dienen sollen: von Mosso[1] und von Rhumbler.[2] Beide beruhen auf der Färbung mit Methylgrün. Beide genügen nicht: Es geht aus ihnen hervor, daß das Methylgrün unter gewissen Bedingungen zur tinktoriellen Veranschaulichung des Todes der Zellen herangezogen werden kann, doch wird der Zweck, eine tinktorielle Unterscheidung der lebenden von der toten zu ermöglichen, nicht erreicht. Bei der Methode von Mosso färben sich nicht die lebenden Zellen, sondern erst die absterbenden und toten, weil das Methylgrün eine rasche Giftwirkung entfaltet; daß abgestorbenes und totes Protoplasma der Färbung zugänglich ist, ist aber nichts Neues. Neu ist nur, was jedoch Mosso nicht hervorhob, daß sich bei seinem Verfahren schließlich die ganze Zelle diffus mit dem Methylgrün tingiert, während sonst nur die Kerne Verwandtschaft mit demselben zeigen. Bei der Methode von Rhumbler wird überhaupt totes Substrat gefärbt. Früher nahm man an, daß sich die lebende Substanz im Gegensatze zu der abgestorbenen nicht färbe. Heute wissen wir, daß die lebende Substanz gefärbt werden kann. Vorzugsweise ist

[1]) Vgl. Virchows Arch. Bd. CXIII, 1888, p. 397.
[2]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. X, 1893, p. 473—474.

es das Cytoplasma, welches in gewissen Teilen färbbar erscheint, doch besitzt nach Verf. auch der Zellkern die Fähigkeit der intravitalen Färbbarkeit. Während man aber behaupten kann, daß sich die Körnungen des Cytoplasmas bei der Anwendung gewisser Farbstoffe regelmäßig färben, sind wir heute noch nicht in der Lage, die Bedingungen, unter welchen eine intravitale Färbung des Kernes zustande kommt, auch nur annäherungsweise präzisieren zu können. Das Verfahren, welches Verf. angewendet hat, nach vielfachen Versuchen, ist das folgende: Man mische 0·05prozentige Lösungen von Neutralrot und Methylenblau (medic. Höchst) in destilliertem Wasser zu gleichen Teilen. Von dem Gemische, welches dauerhaft ist, tropfe man auf gut gereinigte Objektträger und lasse die Tropfen bei 35° im Thermostaten verdampfen. War der Tropfen nicht zu groß, so bildet sich eine gleichmäßige Farbschicht, die man einige Zeit aufbewahren kann. Besser ist es, frisch bereitete Schichten anzuwenden (höchstens 3 Tage alt). Die Objektträger und Deckgläser müssen stets aufs sorgfältigste gereinigt werden, um allen (eventuell Metachromasie verursachenden) schädigenden Einfluß auszuschalten. Verf. geht dann auf die Resultate ein, welche er bei Rhizopoden, Flagellaten, Diatomeen, Chlorophyceen, Würmern, am Flimmerepithel des Frosches und bei Muskelfasern erhalten hat. Es ergab sich, daß die Methode in der Tat geeignet war, einen Unterschied zwischen der Farbenauswahl der toten und lebenden Substanz festzustellen. Verf. hat dann weiter untersucht, wie sich konserviertes Material seinem Verfahren gegenüber verhielt. Es wird dieserhalb auf das Original verwiesen. Das lebende Protoplasma färbt sich bei der Methode des Verf. rot, das tote blau. Verf. hält sich für berechtigt anzunehmen, daß diese rote Färbung einer tatsächlichen vitalen Reaktion gleichkommt. Er sucht dann eine Erklärung zu finden für die von ihm festgestellten färberischen Unterschiede zwischen lebendem und totem Protoplasma. Es muß wegen des Näheren auf das Original verwiesen werden. Er kommt zu dem Schlusse, daß die von ihm beobachteten Färbeerscheinungen auf chemische Beziehungen zwischen dem Protoplasma und den angewandten Farbstoffen zurückzuführen sind. Diese Beziehungen konnten so weit verfolgt werden, daß durch die Supposition von zwei verschiedenen reduktionsfähigen Gruppen im Protoplasma die Resultate am leichtesten erklärt werden konnten. Wenn wir diese supponierten Gruppen des Eiweißmoleküls kennen würden, so würden wir auch imstande sein, den chemischen Unterschied zwischen dem lebenden und toten Protoplasma zu präzisieren.

Hierüber lassen sich aber vorläufig noch keine Vermutungen aufstellen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schridde, H., Beiträge zur Lehre von den Zellkörnelungen. Die Körnelungen der Plasmazellen (Anat. Hefte, H. 85, 86 [Bd. XXVIII, H. 2, 3], 1905, p. 691—768 m. 1 Tfl.).

Verf. unterzieht zuerst die ALTMANNsche Methode einer Besprechung, berichtet über seine Versuche, mit andern Fixierungen die gleichen Resultate zu erhalten und veröffentlicht dann eine von ihm angewendete Fixierungs- und Beizungsmethode, die sich im wesentlichen auf den ALTMANNschen Prinzipien aufbaut, sich aber durch Vermeidung der Nachteile dieser Methode und durch Einfachheit und Billigkeit von dieser unterscheidet. Die nach der ALTMANNschen Methode fixierten Stücke werden nach Einbettung in einem Paraffin von 58° Schmelzpunkt in Schnitte zerlegt, die nicht dicker als 2 μ sein sollen und dann auf eine von METZNER angegebene Weise gefärbt (Anilinwasser-Säurefuchsin, differenzieren mit Pikrinalkohol). Ist die Färbung in der richtigen Weise gelungen, so treten die Granula, welche überhaupt mit dieser Methode erreichbar sind, durch ihren spezifisch roten Ton scharf gefärbt hervor, während die übrigen Teile keinen oder nur einen graugelblichen Farbenton zeigen. Die ALTMANNsche Methode hat nun die folgenden Nachteile: 1) Ist es sehr schwer, ohne Schädigung der einzelnen Gewebsbestandteile von frischen Organen so kleine Stückchen zu gewinnen, wie sie die Methode erfordert (1—2 mm dick). Es lassen sich hierbei Zerrungen und Quetschungen nicht vermeiden. 2) Bringt die bei der Färbung angewandte Erwärmung auch bei längerer Übung doch häufig störende Veränderungen und falsche Bilder hervor. Wollte man diese Nachteile verbessern, so mußte man vor allem eine Fixierungsflüssigkeit nehmen, die sowohl in bezug auf die Schnelligkeit des Eindringens in die Gewebe, wie auch in bezug auf die einwandfreie Fixierung der einzelnen Elemente den höchsten Anforderungen entsprach. Man durfte daher auf keinen Fall ein Osmiumsäuregemisch nehmen, da ein solches nur wenig und langsam eindringt. Verf. hat daher als Fixierungsflüssigkeit Formol-MÜLLER gewählt und nachträglich osmiert. Die Methode ist so die folgende: 1) Fixierung in Formol-MÜLLER (1 : 9); 2) gründliches Auswaschen in fließendem Wasser; 3) 6stündiges Verweilen in destilliertem Wasser; 4) Einlegen auf 24 Stunden in eine einprozentige Osmiumlösung bei Lichtabschluß; 5) gründliches

Auswaschen in fließendem Wasser; 6) steigender Alkohol (50prozentig bis absolut); 7) Alkohol-Chloroform, Chloroform (6 und 7 im Dunklen); 8) Chloroform-Paraffin, Paraffin 58°. Von diesen Paraffinblöcken werden Schnitte von 1 bis 2 μ Dicke angefertigt und auf einen mit einer sehr dünnen Lage von Eiweißglyzerin versehenen Objektträger entweder direkt oder mit Hilfe von erwärmtem Wasser aufgeklebt. Die Färbung kann entweder mit der ALTMANNschen Methode durch Erwärmung oder auf kaltem Wege geschehen. Nach seinen Versuchen empfiehlt Verf. die Objektträger mit den Präparaten aus 85prozentigem Alkohol heraus 2 bis 24 Stunden in die Anilinwasser-Säurefuchsinlösung senkrecht zu stellen. Diese Lösung wird in folgender Weise hergestellt: Zu 100 cc einer kalt gesättigten und filtrierten Lösung von Anilin in destilliertem Wasser setzt man 20 g Säurefuchsin und filtriert. Dann differenziert man in Pikrinalkohol. Am sichersten verfährt man, wenn man die von METZNER angegebene Lösung II verwendet, die aus einem Teile gesättigter, alkoholischer Pikrinsäurelösung und 7 Teilen 20prozentigen Alkohols besteht. Von dieser gießt man etwas auf den Objektträger und wiegt das Präparat hin und her; man gießt so lange Pikrinalkohol nach und differenziert, bis die Schnitte einen hellgelblichroten Farbenton bekommen. Das Resultat soll eine vorzügliche Darstellung der Zellkörnelungen sein, wobei die Körner der verschiedenen Zellen in einem voneinander so abweichenden und charakteristischen Farbentone erscheinen, daß auch für den weniger Geübten die Unterscheidung der Zellen nach der Färbung der Körner sehr leicht fällt. So färben sich die Körner der Belegzellen violettrot, die der Hauptzellen rotbraun, die der eosinophilen Zellen schwarzrot, die der Plasmazellen ziegelrot, die der neutrophilen Leukocyten bräunlichrot, während die der Mastzellen kein Rot aufweisen, sondern einen grauschwarzen Ton besitzen. Ganz die gleichen Resultate erhält man, wenn man Paraffinschnitte, die von Präparaten aus MÜLLER-Formol herstammen (natürlich lebenswarm fixiert) 2 Stunden oder länger in einprozentige Osmiumsäure stellt, dann kurz in destilliertem Wasser abspült und in der angegebenen Weise färbt. Dieses Verfahren ist insofern noch vorteilhafter, als man an den Schnitten des gleichen Blockes außer der Färbung der in Rede stehenden Körnelung auch jede andere Zellkörnelung mit jeder Farbe darstellen kann, während an osmierten Präparaten die Färbung mehr oder weniger schwierig ist. Auch in einfacher Formollösung (1 Teil Formol, 9 Teile Wasser) lebensfrisch fixierte Präparate geben nach der Doppelbeizung mit Kalium

bichromat (12 bis 24 Stunden bei 30°) und Osmiumsäure ganz die gleichen Resultate. Will man indessen von vornherein die Organstücke zum Studium der Zellkörnelungen verwenden, so ist die erste Methode die sicherste und beste, da hier die Details am feinsten und deutlichsten herauskommen. Über die Theorie der Vorgänge bei diesen Fixierungsmethoden sagt Verf. das Folgende. Die Fixierung geschieht durch das Formol-Kaliumbichromatgemisch; beide Stoffe können zu den besten Fixierungsmitteln gerechnet werden, und bewirken beide eine homogene Gerinnung mit bester Formerhaltung. Das Kaliumbichromat, das nach Tellyesniczky als ein Plasmakonservierer bester Art bezeichnet werden muß, wirkt außerdem als Beize und wird hierin durch die nachfolgende Osmiumsäure unterstützt. Durch diese letztere wird eine Veränderung in keiner Weise hervorgerufen. Bei der nun folgenden Färbung mit Anilinwasser-Säurefuchsin wirkt das Osmium einesteils oxydierend auf das Anilin und gibt so durch die Bildung von Anilinschwarz die Untertönung, anderseits stellt es auch ein Fixierungsmittel des Farbstoffes dar. Die Affinität der Zellkörnelungen gegenüber dem Säurefuchsin wird dadurch erhöht, daß sich die basischen Eigenschaften des Anilinschwarz zu den in den Körnelungen schon vorhandenen hinzuaddieren. — Verf. hat dann weiter durch vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen andern Methoden festzustellen versucht, ob die durch die oben angegebene Methode erzielten Resultate uns ein richtiges Bild der wirklichen Verhältnisse geben, oder ob sie eventuell als Kunstprodukt anzusehen sind. Er entscheidet sich für das erstere: Ein wahrheitsgetreues Spiegelbild des natürlichen Aufbaues der Zelle, so weit das überhaupt mit den uns zu Gebote stehenden Mitteln möglich ist. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Degen, A., Untersuchungen über die kontraktile Vakuole und die Wabenstruktur des Protoplasmas (Botan. Zeitg. Bd. LXIII, 1905, p. 163).

Von großem Interesse für den Mikroskopiker ist der Nachweis, daß Schaumstrukturen, wie sie von Bütschli beschrieben worden sind, sich an Objekten der verschiedensten Art — Protozoën, Bakterien, Pilzhyphen, Wurzelspitzen, Wurzelhaaren, Brennhaaren etc. — durch Behandlung mit bestimmten Reagentien hervorrufen lassen. Als Wabenbildner ersten Ranges haben die Basen zu gelten:

Kalilauge bei . . . . 0·01 Prozent
Natronlauge . . . . 0·02 „

Ammoniumhydroxyd	0·02	Prozent
Calciumhydroxyd	0·02	„
Baryumhydroxyd	0·05	„
Kaliumkarbonat	0·1 bis 0·05	„
Natriumkarbonat	0·1 „ 0·05	„

geben schöne Wabenbilder. Besonders deutlich werden die Schäume, wenn man die Alkalien mit Wasser auswäscht. Tannin und Säuren (Essig-, Salz-, Salpeter-, Schwefelsäure) geben weder vor noch nach dem Auswaschen mit Wasser Waben, sondern erst bei nachfolgender Behandlung mit Alkali. Verf. nimmt an, daß durch Behandlung mit diesem im Plasma kleine Mengen von Niederschlägen entstehen, die sich dann wieder lösen und die Bildung zahlreicher kleiner Lösungsvakuolen hervorrufen. — Von Interesse ist, daß dieselben Schaumstrukturen auch durch Deckglasdruck und bei Behandlung mit hypotonischen Lösungen (Übertragen der Objekte aus der Kulturflüssigkeit in reines Wasser) erzielt werden können. In beiden Fällen liegt vielleicht eine Entmischung im Protoplasma vor — bedingt durch allzu reichliche Wasseraufnahme.

Sehr ausführlich äußert sich Verf. über die Fixierung wabigen Protoplasmas (Untersuchungen an Glaucoma colpidium). Besonders wirksam sind Osmiumsäure, wässerige Sublimatlösung und Formaldehyd. Osmiumsäure kam in einprozentiger Lösung zur Anwendung, doch genügen offenbar auch noch viel schwächere Konzentrationen. Osmiumsäure „gelatiniert die Objekte, was besonders für die Konservierung unwabiger Protoplasten von Vorteil ist, indem eine stark körnige oder gerüstige Fällung, wie sie z. B. Platinchlorid, Jod, Pikrinsäure und Pikrinschwefelsäure, überhaupt die meisten andern Fixierungsmittel hervorbringen, leicht den Eindruck einer Wabenstruktur erzeugen kann. Es empfiehlt sich jedoch mit einprozentigem Platinchlorid nachzufixieren, was keine Nachteile bringt, aber die Fällungen haltbarer macht.“ — Sublimat in 7prozentiger Lösung fixiert gut, aber außerordentlich stark körnig; dieser Übelstand tritt bei Anwendung ein- oder 2prozentiger Lösung weniger hervor. Formaldehyd ist besonders in 2prozentiger Lösung sehr leistungsfähig. Empfehlenswert sind auch die osmiumsäurehaltigen Fixierungsgemische. — Die Angaben des Verf. über wenig geeignete Fixierungsflüssigkeiten sind im Original (p. 203) nachzulesen.

Zur Färbung empfiehlt sich nach Verf. Säurefuchsin-Lichtgrün, mit dem sich das Plasmagerüst gut färbt.

Beim Entwässern wurden die Tiere in Alkohol verschiedener

Konzentration — von 5 zu 5 Prozent ansteigend in absoluten übertragen, wobei die Zentrifuge gute Dienste leistet. Aus Alkohol absolutus überträgt man direkt in venezianischen Terpentin — oder nach zwei vermittelnden Alkohol-Xylolkonzentrationen und reinem Xylol in Kanadabalsam. *Küster* (*Halle a. S.*).

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Wirbeltiere.

Liebreich, O., Über Blutkörperchenzählung mit dem Thoma-Zeissschen Apparat (Physiol. Ges. Berlin, Sitzung 24. Febr. 1905; Ref. in Arch. f. Anat. u. Physiol. 1905, Physiol. Abt., H. 3, 4, p. 385—389).

Verf. hebt hervor, daß mittels des Thoma-Zeissschen Blutkörperchenzählapparates mit Sicherheit festgestellt worden ist, daß eine Vermehrung der Blutkörperchen beim Aufstieg zu einem hoch gelegenen Orte sofort eintritt und ebenso ein Herabsinken der ursprünglichen Zahl unmittelbar nach der Rückkunft in die Ebene. Er bespricht die Versuche, diese Beobachtungen durch irgendwelche mit dem Apparate verbundene Fehlerquellen zu erklären und stellt eine neue Theorie auf, welche sich auf die Veränderlichkeit der Schwerkraft in verschiedener Höhe und an verschiedenen Stellen der Erdoberfläche in gleicher Höhe gründet. Diese Verschiedenheiten der Schwerkraft wirken durch die Oberflächenspannung wieder auf die Verteilung der Blutkörperchen in dem Apparate ein. Wegen des Näheren der sehr interessanten Ausführungen muß auf das Original verwiesen werden. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Bürker, K., Notiz über eine neue Form der Zählkammer (Münchn. med. Wochenschr., Jahrg. LII, No. 19, p. 912).

Verf. stellt zuerst die Mängel der Thoma-Zeissschen Zählkammer kurz zusammen: 1) Die Schwierigkeit tadelloser Zusammensetzung der Kammer; 2) Die leicht eintretende ungleichmäßige Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche; 3) Die Abhängigkeit der Zählkammer vom Luftdruck, wenn dieser sich plötzlich verändert;

4) Es macht das Zählnetz nur einen kleinen Bruchteil (etwa ein Fünfzigstel) der gesamten Zählfläche aus. Eine neue Zählkammer, auf welche schon in einer Arbeit von E. Meissen[1] hingewiesen worden ist, vermeidet diese Mängel: Den ersten dadurch, daß das Deckglas schon vor dem Einbringen der Blutmischung aufgelegt wird, wodurch sich in aller Ruhe Newtonsche Streifen sogar 0. bis 1. Ordnung erzeugen lassen, dabei haftet das Deckglas fest. Der zweite Fehler wird dadurch beseitigt, daß die Blutmischung durch Kapillarität nahezu momentan in den Zählraum eindringt, wodurch auch eine sehr gleichmäßige Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche zustande kommt. Der dritte Mangel, die Abhängigkeit der Zählkammer vom Luftdruck, kommt nicht mehr in Betracht, weil die Zählkammer an zwei Seiten völlig offen, also mehr Schlitzkammer ist als die Meissensche Kammer. Der vierte Fehler wird dadurch vermieden, daß entweder überhaupt kein Zählnetz eingegraben ist, oder daß dieses 9 Quadratmillimeter statt 1 Quadratmillimeter, wie in der alten Kammer, beträgt. Die neue Zählkammer wird in zwei Formen geliefert: Bei der einen ist ein Zählnetz überhaupt nicht eingegraben, der Zählraum wird bei dieser Form vielmehr durch entsprechende Blenden im Okular abgegrenzt, welche mit Hilfe eines beigegebenen Objektmikrometers ausgewertet werden können. Diese Form ist für sehr genaue Zählungen bestimmt. Für den Praktiker eignet sich besser die zweite Form, mit dem Zählnetz, welches sowohl zur Zählung roter wie weißer Blutkörperchen benutzt werden kann. Die neue Kammer ist viel leichter zusammen zu setzen als die alte; die Zählungen werden bei der viel gleichmäßigeren Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche genauer. Statt 200 Quadrate und mehr, wie bei der alten Kammer, braucht man bei der neuen nur 80 durchzuzählen, um einen gut verwendbaren Mittelwert zu erhalten. Dazu kommt noch, daß bei ein und derselben Deckglasauflage zwei Zählungen vorgenommen werden können, weil die Zählfläche in zwei getrennte Abschnitte geschieden ist. Die Firma C. Zeiss in Jena liefert beide Formen der Zählkammer. *Schiefferdecker (Bonn).*

Myers, B. D., Fixation of tissues by injection into the arteries (Johns Hopkins Hosp. Bull. vol. XVI, 1905, no. 167, 6 pp. w. 1 fig.).

Verf. rühmt die gute Wirkung der von Mc Farland angegebenen

[1]) Vgl. Münchn. med. Wochenschr. 1905, No. 12, p. 655.

Injektionsmethode. Immerhin ist die Vorrichtung für dieselbe etwas umständlich und erlaubt keine ganz genaue Abmessung des Druckes. Außerdem ist die Methode mehr für billigere Injektionsmassen zu benutzen. Verf. beschreibt nun eine Vorrichtung, bei welcher der Druck geliefert wird von einem Wasserluftdruckapparat. Dieser trägt ein Rohr, welches sich T-förmig teilt: Der eine Schenkel geht zu einem Quecksilbermanometer hin, der andere mündet durch einen durchbohrten Stopfen in die obere Öffnung einer Flasche, aus deren unterem Ende der Injektionsschlauch abtritt. Man füllt die Flasche zuerst mit der erwärmten physiologischen Kochsalzlösung, spült das Gefäßsystem des Tieres mit dieser durch, entleert dann die Flasche und gießt die ebenfalls erwärmte Injektionsmasse hinein. Es ist nicht immer nötig das Gefäßsystem zuerst auszuwaschen, doch wird die Fixierung im allgemeinen besser, wenn es geschieht; bei Anwendung von Sublimat macht es nicht viel aus, bei Formol und Hermannscher Flüssigkeit dagegen ist es für eine gute Fixierung vorteilhaft. Als beste Fixierungsmittel erwiesen sich Sublimat, Formol, Hermannsche Flüssigkeit und Alkohol. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Meves, F., Über die Wirkung von Ammoniakdämpfen auf die roten Blutkörperchen von Amphibien (Anat. Anz. Bd. XXVII, 1905, No. 8, 9, p. 177—186 m. 17 Abb.).

Um über den Konzentrationsgrad des angewendeten Ammoniak genauere Angaben machen zu können, ist Verf. in der Weise verfahren, daß er die käufliche konzentrierte Ammoniaklösung (mit etwa 25prozentigem Ammoniak) in bestimmtem Verhältnisse mit Wasser verdünnte und den Dampf, der aus einer abgemessenen Menge der Mischung aufstieg, auf die Blutkörperchen wirken ließ. Er gab jedesmal 6 Tropfen der Mischung in eine Böttchersche feuchte Kammer, welche aus einem 5 mm hohen, dickwandigen Glasringe bestand (innerer Durchmesser 18 mm), der auf einem Objektträger aufgekittet war und oben mit Hilfe von Vaselin durch ein Deckglas geschlossen wurde, an dessen untere Seite das Blut gebracht war. Die Untersuchungen wurden ausgeführt an dem Blute vom Frosch (Rana esculenta) und Feuersalamander (Salamandra maculosa). Der Ammoniakdampf übte eine höchst eigenartige Wirkung auf den Randreifen der roten Blutkörperchen, besonders des Salamanders aus.

1) Salamander. Setzt man rote Blutkörperchen den Dämpfen aus, welche von einigen Tropfen einer Mischung von einem Teil

Ammoniak und 20 bis 40 Teilen Wasser aufsteigen, so wickeln sich die beiden Längshälften des Randreifens spiralig umeinander. Bringt man in die feuchte Kammer eine stärkere Ammoniakmischung (1 Teil Ammoniaklösung auf 6 bis 10 Teile Wasser), so bleibt die Zusammendrehung des Randreifens zu einem Strange aus. Dagegen tritt, wie auch bei der vorigen Lösung, eine Zuspitzung der Blutscheibe an dem einen Pole ein. Später rundet sich dieser Pol wieder ab und es werden im Innern der Zelle der Randreifen und eine Anzahl glänzender Körner oder Vakuolen sichtbar. Die Dämpfe von einigen Tropfen konzentrierter Ammoniaklösung oder von solcher, die nur mit einem bis 3 Teilen Wasser verdünnt ist, bewirken, daß die roten Blutkörperchen sofort kugelig werden. Im Zellleibe tritt ein reichlicher körniger Niederschlag auf. Der Kern bläht sich auf, noch bevor der Zellleib sein Hämoglobin abgegeben hat. 2) Frosch. Die Erscheinungen sind hier ähnlich, aber nicht so ausgeprägt. — Dieselben Wirkungen, welche man durch Ammoniakdampf erhält, erhält man auch, wenn man Blut und Ammoniaklösung zusammen eindeckt. Zusatz von Kalilauge dagegen ruft solche Erscheinungen nicht hervor. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Takayama, M., Beiträge zur Toxikologie und gerichtlichen Medizin, nebst einem Vorwort von Prof. Dr. R. Kobert. 4 Tfln. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1905.

Das vorliegende Buch bringt im wesentlichen neue Untersuchungen über die Chemie des Blutfarbstoffes. Zwei Abschnitte sind auch für Anatomen und Mikroskopiker von großem Interesse; es sind dies der fünfte und siebente Teil.

Der fünfte Teil behandelt die Frage, warum die mit Formalin konservierten Leichenorgane beim Eintragen in Alkohol rot werden und hat besonders für die Forscher Bedeutung, die sich mit dem Problem befassen, Museumsstücke in ihren natürlichen Farben nach den Methoden von Jores, Melnikow-Raswedenkow, Kayserling u. a. zu konservieren.

Durch eine Reihe von Versuchen wird festgestellt, daß das Formaldehyd, gleichgültig ob es schwach sauer oder neutral reagiert, auf das genuine Blut, sowie auf Blutlösungen erst methämoglobinbildend (bräunend) einwirkt. Durch Mischung dieses Formol-Methämoglobin-Blutes mit Alkohol entsteht nach Verf. nicht, wie von anderer Seite behauptet worden ist, Hämatin, sondern Kathämoglobin, das ist eine Zwischenstufe zwischen Methämoglobin und Hämatin, und

bedingt die bei diesem Versuch im Reagenzglas und in den lege artis konservierten, anatomischen Präparaten auftretende rote Farbe.

Im siebenten Teil teilt der Verf. eine Verbesserung der sogenannten FLORENCEschen Spermareaktion mit. Die FLORENCE-Kristalle, die zwar für Sperma durchaus nicht spezifisch sind, sondern auch von Vaginal- und Uterinsekret, faulenden Organen der verschiedensten Art etc. gegeben werden, entstehen nach Verf. am schönsten mit seinem neuen Reagenz: 2prozentige Kaliumjodat-, 2prozentige Jodkaliumlösung ana (erst vor dem Gebrauch mischen oder das fertige Gemisch mit verdünnter Sodalösung schwach alkalisieren). Damit wird das zu untersuchende Objekt behandelt; dann sehr vorsichtige Ansäuerung, dann Mikroskopieren. Handelt es sich um Sperma, so sieht man hellbraune, ganz regelmäßig erscheinende rhombische Stäbchen, d. h. FLORENCEsche Kristalle, in enormen Mengen herausschießen.

Die zunächst kleinen Kristalle wandeln sich nach einigen Stunden in schöne Kristalle um, welche in bezug auf die Farbe und auf die Kristallform mit TEICHMANNschen Häminkristallen fast vollkommen identisch sind. Die Kristallformen sind auf einer Tafel wiedergegeben. *Levy (Halle a. S.).*

Edens, Über Amyloidfärbung und Amyloiddegeneration (VIRCHOWS Arch. Bd. CLXXX, 1905, H. 2, p. 346—359 m. 1 Tfl.).

Verf. hebt hervor, daß der Untersuchung der feineren histologischen Vorgänge bei der Amyloiddegeneration bisher die Schwierigkeit der Herstellung einwandfrei spezifisch gefärbter und aufgehellter Präparate entgegenstand. Verf. geht dann auf die einzelnen Schwierigkeiten ein und empfiehlt die folgende Methode: Die noch in Paraffin eingeschlossenen Schnitte (5 bis 10 μ dick) werden 24 Stunden in der folgenden salzsauren Methylviolettlösung gefärbt. Man setzt zu 100 cc absoluten Alkohols Methylviolett 5 B (GRÜBLER, Leipzig) im Überschusse hinzu, schüttelt durch, läßt absetzen und filtriert nach 24 Stunden. Mit Hilfe dieser Stammlösung stellt man sich folgende Farbflüssigkeit her:

Salzsäure (spez. Gew. 1·124) . . . . 1·0
Destilliertes Wasser bis zu . . . . 300·0.

Dieser Lösung setzt man hinzu:

Konzentrierte, alkoholische Methylviolettlösung . . 10·0.

Nach der Färbung läßt man die Schnitte gerade lufttrocken werden, bringt sie in Xylol zur Entfernung des Paraffins und bettet

in Kanadabalsam ein. Es wird eine sehr distinkte Kernfärbung erhalten, die im wesentlichen abhängig ist von dem Salzsäuregehalte der Lösung; bei hohem Gehalte wird die Kerndifferenzierung verwischt, bei zu geringem Gehalte tritt keine ganz scharfe Metachromasie ein. Innerhalb dieser Grenzen besteht ein ziemlich breiter Spielraum für den Salzsäuregehalt. Die oben angegebene Zusammensetzung der Farbflüssigkeit hat Verf. die besten Resultate ergeben. Die Kerndifferenzierung wird bei Benutzung einer alkoholischen Stammlösung schärfer als bei einer wässerigen. Unter den von Grübler in den Handel gebrachten Methylviolettsorten scheint bei dem angegebenen Salzsäuregehalte Methylviolett 5 B am geeignetsten zu sein. — Man kann auch von Paraffin befreite Schnitte färben, nach der Färbung mit Fließpapier trocknen und mit Oleum linaloes aufhellen, dann Einschluß in Kanadabalsam. Die Schönheit der Farben leidet allerdings etwas unter der Einwirkung des Öls, doch bleibt eine scharfe Metachromasie bestehen an gut gefärbten Präparaten. Es ist unnötig, die in der salzsauren Lösung gefärbten Schnitte zu wässern, kurzes Abspülen genügt; bei längerem Wässern leidet die Schönheit der Färbung. Paraffinschnitte in Lävulose eingebettet, nachdem die überschüssige Farblösung durch ein kleines Glasrohr abgeblasen war, und solche in Kanadabalsam haben nach Monaten bis jetzt völlig unveränderte, scharfe Metachromasie gezeigt. Um rasch ein sicheres Urteil über Amyloiddegeneration frischer Präparate zu erhalten, genügt es, einen Tropfen der Lösung auf den Schnitt zu bringen, in einer Minute ist die Reaktion da. Man kann jetzt in Lävulose einschließen oder den Schnitt in der Farblösung auflegen, absaugen und umranden. Für den makroskopischen Amyloidnachweis ist die Lösung nicht geeignet. Eine Doppelfärbung, wie die von Birch-Hirschfeld angegebene, hält Verf. für unzweckmäßig, da sie die Amyloidreaktion der Kerne verdecken kann. Eine Überfärbung der entparaffinierten oder frischen Schnitte ist auch bei tagelanger Einwirkung der Lösung ausgeschlossen. Ein der Methylviolettfärbung überhaupt anhaftender Mangel, die metachromatische Färbung von Schleim und Knorpel, tritt auch bei der vom Verf. angegebenen Methode ein. Verf. geht näher auf diesen Mangel der Färbung ein, weshalb auf das Original verwiesen wird. Wesentlich ist, daß immer eine frisch hergestellte Lösung benutzt wird, da alte Lösungen selbst in einen roten Farbenton umschlagen und die Präparate diffus rot färben.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Blumstein-Judina, B., Die Pneumatisation des Markes der Vogelknochen (Anat. Hefte, H. 87, [Bd. XXIX], 1905, p. 1—52 m. 3 Tfln.).

Die Untersuchungen wurden ausgeführt an der Taube, und zwar an verschiedenen Knochen derselben, da sich verschiedene Modifikationen in den einzelnen Fällen ergaben. Die jüngsten Tiere waren 3 Wochen alt; sie werden um diese Zeit flügge und befinden sich gerade in dem Stadium, in welchem die Knochenpneumatisation im Humerus und Sternum beginnt. Es wurde sorgfältig darauf geachtet, daß beim Herausschneiden der Knochen Blut nicht in die Lufträume eindrang. Das Tier wurde durch Dekapitation getötet, die Haut von Brust und Rücken, Schulter, Oberarm und Oberschenkel wurde entfernt, das Schulterblatt vom Rumpfe abgelöst, und es wurde, indem man bei nach oben gewendeter Brustseite des Tieres vorne zu schneiden begann, der ganze für die Lokomotion besonders wichtige Komplex: Flügel, Schultergürtel und Brustbein mit den zugehörigen Muskeln, sowie mit Herz und Herzbeutel vom Reste getrennt, wobei die Achselarterie sowie die Rippen (letztere ungefähr an der Knickungsstelle) durchtrennt werden mußten. Dabei entbluteten die Brustmuskeln in genügender Weise, um bei nachträglicher Entfernung derselben weder eine Verunreinigung des Humerus noch des Sternums und Coracoides mit Blut befürchten zu lassen. Beim Herausschneiden des Humerus wurde darauf geachtet, daß die um den Porus pneumaticus herum endigenden Muskeln im Niveau der Ränder der dort liegenden Nische möglichst glatt durchschnitten wurden. Wegen der weiteren makroskopischen Manipulationen wird auf das Original verwiesen. Fixiert wurde vorzugsweise mit einer 10prozentigen Formollösung in 90prozentigem Alkohol; entkalkt wurde mit 5prozentiger Salpetersäurelösung. Es ergab sich hierbei als wichtig, schon bei Beginn dieser Prozedur auf irgendeine Weise für möglichste Verdrängung der Luft aus den Knochen zu sorgen. Man kann das auf verschiedene Weise bewirken, besonders durch die Eröffnung größerer Lufthöhlen, so daß beim Untertauchen der Knochen in die Flüssigkeit die Luft in Blasen heraustreten kann. Wenigstens müssen die Knochen bald nach der Entkalkung soviel als möglich zerlegt werden. Dann Auswaschen in destilliertem Wasser, steigender Alkohol, Einbettung in Celloïdin oder Paraffin. Letztere Einbettung wird für den Knochen meist als unbrauchbar bezeichnet, für Knochen (auch Humerus, Femur) halbwüchsiger und erwachsener Tauben ergibt sie indessen ganz brauchbare Resultate.

Verfahren für die Paraffineinbettung: Die entkalkten Knochen müssen möglichst weitgehend zerschnitten sein, am besten in der Richtung der gewünschten Schnittebene, z. B. bei Längsschnitten durch den Humerus durch Längsspaltung. Die Objekte kommen dabei aus absolutem (oder auch 95prozentigem) Alkohol in Karbolxylol, nach völliger Aufhellung in Xylol, dann in Xylol-Paraffin (24 Stunden und mehr auf dem Brutofen), dann in reines Paraffin (6 bis 12 Stunden im Brutofen), Wechseln des Paraffins nach einer Viertelstunde, erstarren lassen (fingerhoch mit Paraffin bedeckt), in einem Blechgefäße, das auf kaltem Wasser schwimmt, schneiden. Aufkleben der Schnitte mit sehr dünner Schicht Strasserscher Klebemasse (Collodium duplex und Rizinusöl zu gleichen Teilen) auf reines Glas, Xylol, 90prozentiger Alkohol mit Chloroform, verdünnte Hämalaunlösung, Auswaschen in destilliertem Wasser, 90prozentiger Alkohol, Karbolxylol, dem Kreosoteosin zugesetzt ist, Xylol, Kanadabalsam, Deckglas. Zwischen den letzten Manipulationen, von dem Auswaschen in destilliertem Wasser an, jeweilen Abtrocknen mit Filtrierpapier. Die Schnitte können auch auf Naturpauspapier geklebt und in vollständig analoger Weise nachbehandelt werden, bis zum Einlegen der gefärbten Schnitte in Xylol. Eine besondere Vorbehandlung des Papiers, um seine Färbbarkeit herabzusetzen, war nicht nötig. Nach dem Xylol werden die Bänder, mit den Schnitten nach unten, auf Glas gebracht, das mit einer Mischung von einem Volumteil Damarharz (Damarharz 3 und Xylol 2 Teile) mit $^1/_5$ Volumteil gesättigter Guttapercha-Schwefelkohlenstofflösung dick bestrichen ist. Man läßt dann 24 Stunden am Fenster und 24 Stunden im warmen Ofen trocknen, dann Abziehen des Papierbandes vom Glase auf der heißen Metallplatte, Überstreichen der Schnittseite mit verdünnter Harz-Guttaperchalösung, Trocknen auf dem Nagelbrett, Aufheben zwischen Filtrierpapier. Nachträgliches Abklatschen beliebiger herausgeschnittener Schnitte von der Papierunterlage auf Glas ist jederzeit möglich. Strasser verfährt dabei neuerdings folgendermaßen: Auflösen des Harzes in Xylol oder Chloroform, Abtrocknen des Papierstückes mit Filtrierpapier, Aufkleben der Platte, mit dem Schnitte nach unten, auf den Objektträger, welcher mit einer ziemlich dickflüssigen Lösung von Kautschuk in Xylol-Chloroform bestrichen ist. Die Platte muß sorgfältig aufgepreßt werden, so lange die Klebeschicht noch feucht ist. Sofortiges Einlegen in ein Acetonbad. Nach einigen Minuten läßt sich das Papier abziehen, während der Schnitt auf dem Objektträger zurückbleibt. Man nimmt den Objekt-

träger aus dem Bade, läßt das Aceton etwas abdunsten und übergießt mit Kollodium oder überstreicht mit der STRASSERschen Klebemasse. Einlegen in ein Bad von Karbolxylol und Chloroform für eine Viertelstunde, Kanadabalsam, Deckglas. Verfahren bei der Celloïdineinbettung (nach dem von STRASSER besonders für den vorliegenden Zweck ausprobierten Verfahren). Die Knochen müssen möglichst weitgehend zerschnitten sein, so daß das Celloïdin in die früher mit Luft erfüllten Höhlen eintreten kann. Aus absolutem Alkohol kommen die Stücke in dünnes Celloïdin und dann in dickerflüssiges, in welchem sie wochenlang unter Verschluß verbleiben. Eingebettet wird in kleiner Photographenschale; in diese Schale legt man ein Papierkästchen. In dieses kann man eine Mehrzahl von Objekten, z. B. alle Stücke eines Humerus oder Sternum, nebeneinander in genügenden Abständen hineinlegen, eventuell jedes Stück auf ein mit einer Nummer bezeichnetes Papierchen. Übergießen mit dickflüssigem Celloïdin. Die Schale wird dann nicht ganz luftdicht bedeckt, so daß allmähliche Erstarrung fast ohne Krustenbildung stattfindet. Sobald eine Kruste sich bilden will, oder die Objekte aus der sich zusammenziehenden Masse aufzutauchen beginnen, Nachgießen von Celloïdin. Erst wenn alles gleichmäßig durch und durch bis zur Schneidbarkeit erstarrt ist und die Objekte dabei genügend dick bedeckt sind, wird das ganze Papierkästchen mit Inhalt in 85prozentigen Alkohol zur völligen gleichmäßigen Erhärtung gebracht und nach Zerschneiden in Stücke weiter darin belassen. Später kann man die Blöcke zurechtschneiden, abtrocknen und mit ganz dickflüssigem Celloïdin auf eine Schiefer- oder Stabilitplatte aufkleben. Erstarrenlassen der Klebmasse an der Luft, Wiedereinlegen des Ganzen in 85prozentigen Alkohol. Zum Schneiden wurde das gewöhnliche Paraffinmikrotom mit Objekttisch (nicht Klammer) und breitem STRASSERschen Messer und Messerhalter benutzt. Die Schieferplatte des Blockes wird unten abgetrocknet und mit heißem Spatel und Paraffin auf den Objekttisch aufgeklebt. Nach wenigen Minuten kann geschnitten werden. Bei Unterbrechung der Arbeit wird das Objekt mit der Stabilitplatte vom Objekttische abgelöst und wieder in Alkohol von 85 Prozent gebracht. Es wurde trocken geschnitten, d. h. ohne wiederholte Befeuchtung des Blockes oder des Messers. Die Weiterbehandlung der auf Glas oder Papier aufgeklebten Cellodinschnitte geschieht ganz so, wie bei den Paraffinschnitten, nur daß sie zuerst statt in Xylol in Karbolxylol und von da in 90prozentigen Alkohol kommen. Das Übertragen der Schnitte

von der Papierunterlage auf eine Glasunterlage kann ganz wie bei Paraffinschnitten geschehen. Es gibt für Celloïdinschnitte ein noch einfacheres Abklatschverfahren: Man entfernt im Xylolbade das Harz, trocknet die Platte gut ab und klebt sie, den Schnitt nach unten, auf den mit STRASSERscher Klebemasse bestrichenen Objektträger. Das Ganze kommt sofort in ein Bad von Karbolxylol. Nach Erstarrung der Klebeschicht trocknet man wieder ab und bringt nun den Objektträger ins Acetonbad, aber nur für eine halbe, längstens für eine Minute. Man kann jetzt das Papier vom Schnitte abziehen, läßt abdunsten, überstreicht allenfalls noch mit Klebemasse und bringt den Objektträger auf einige Zeit ins Karbolxylolbad. Xylol, Kanadabalsam, Deckglas. Wie Verf. hervorhebt, hat sich selbst für die relativ kleinen Objekte, mit denen sie arbeitete, bei denen sofortiges Montieren aller Schnitte auf Glas sich allenfalls durchführen läßt, das Aufkleben der Schnitte auf Papier doch als ein besonderer Vorteil erwiesen, und zwar ganz besonders im Anfange der Arbeit, bis die besonders wichtigen und brauchbaren Färbungen, Schnittführungen, die günstigen Objekte und Objektstellen gefunden sind, und bis die erste topographische Übersicht gewonnen ist. Handelt es sich dann weiter aber um die feine histologische Untersuchung bestimmter, bekannter, eigens ausgesuchter Objekte und Objektstellen mit erprobten Färbungsmethoden, dann werden mit Vorteil von vornherein alle Schnitte direkt auf Glas montiert. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Donaggio, A., Colorazione positiva delle fibre nervose nella fase iniziale della degenerazione primaria e secondaria, sistematica or diffusa del sistema nervoso centrale (Riv. Sperim. di Freniatr. t. XXX, fasc. 1).

Lugiato, L., Degenerazioni secondarie sperimentali [da strappo dello sciatico] studiate col metodo di DONAGGIO per le degenerazioni — prima e seconda note (Riv. Sperim. di Freniatr. t. XXX, p. 135. Beide Arbeiten ref. n. Ref. in Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXIV, 1905, No. 11, p. 522—523).

DONAGGIO hat die empirisch gefundene Tatsache, daß degenerierende Fasern nach intensiver Färbung weit resistender gegen alle Prozesse der Entfärbung sind, benutzt, um eine neue Methode aufzustellen, die scheinbar recht gute Resultate geliefert hat. Die in

Chromsalzen gehärteten Stücke werden in wässeriger Hämatoxylinlösung gefärbt, mit einem Metallsalze (am besten mit ammoniakalischem Zinnchlorür) gebeizt und nach Pal differenziert. Beizung und Differenzierung können gleichzeitig vorgenommen werden, wenn man nach der Färbung mit Hämatoxylin die Schnitte in eine 10- bis 20prozentige Eisenchloridlösung bringt (Modifikation III des Verf.). Die Methode soll folgende Vorzüge besitzen: 1) Gibt sie schon dann Resultate, wenn die Marchi-Methode noch versagt; 2) ist sie eine positive Methode; 3) ist sie die einzige Methode, die Veränderungen an den Nervenfasern zeigt, die einer langsamen Atrophie unterliegen, also keinen Zerfall zeigen; ein Prozeß, den man als Wirkung gewisser Intoxikationen auftreten sieht; die Atrophie sieht Verf. als das erste Stadium der primären Degeneration an; 4) ist die Methode auch bei Material anwendbar, das monatelang in Chromsalzen gehärtet worden ist.

Lugiato hat die eben beschriebene Methode von Donaggio an Kaninchen geprüft, denen der Ischiadicus der einen Seite herausgerissen war. Er kommt zu dem Resultate, daß die neue Methode bereits 32 Stunden nach der Operation deutliche positive Resultate ergibt, während die Marchi-Methode erst nach 72 Stunden Veränderungen erkennen läßt. Bis zum 30. Tage nach der Operation liefern beide Methoden identische Bilder; von da ab wird der Wert der Donaggioschen Methode geringer, während die Marchi-Methode bis zum 90. Tage gute Resultate liefert. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schaffer, K., Neurofibrillenpräparate nach der Bielschowskyschen Methode (Psychiatrisch-neurologische Sektion d. königl. Ärztevereins Budapest, Sitz. 16. Jan. 1905. Ref. in Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXIV, 1905, No. 12, p. 588—589).

Die Methode ist nach Verf. nicht nur bei normalem, sondern, was sie besonders wertvoll macht, auch bei krankhaft verändertem Materiale ausgezeichnet brauchbar, wodurch sie der im übrigen vorzüglichen Fibrillenmethode von Ramón y Cajal, welche nur eine bestimmte gürtelartige Partie des Präparates imprägniert, überlegen ist. Die Imprägnation erscheint voller, wenn man statt der von Bielschowsky vorgeschriebenen 2prozentigen Silbernitratlösung eine 4prozentige benutzt und die Schnitte nicht 24, sondern 48 Stunden lang in der Flüssigkeit beläßt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Dogiel, A. S., Der fibrilläre Bau der Nervenendapparate in der Haut des Menschen und der Säugetiere und die Neuronentheorie (Anat. Anz. Bd. XXVII, 1905, No. 4, 5, p. 97—118, m. 3 Tfln.).

Es ist dem Verf. gelungen, mit der Silbermethode die Endigung der Neurofibrillen in den im Epithel gelegenen Tastscheiben, in den typischen und modifizierten Vater-Pacinischen Körperchen, in den typischen und modifizierten Meissnerschen Körperchen und schließlich in den „papillären Büscheln" von Ruffini genau zu studieren. Als Material diente die Haut der Finger- und Zehenkuppen vom Menschen, die von Haaren befreiten Hautteile der Finger und Zehen der Katze, sowie das Mesenterium der letzteren. Eine hinreichende Färbung der Neurofibrillen in diesen Nervenendapparaten bei der Bearbeitung der Haut mit Silber nach dem Verfahren von Ramón y Cajal wird nur dann erhalten, wenn das Material vollkommen frisch ist. Von den verschiedenen von Cajal angegebenen Verfahren eignet sich für diesen Zweck am besten das von ihm in der Arbeit „Un sencillo metodo de coloracion selectiva del reticulo protoplasmico etc." (Trab. Labor. Investig. Biol. Univ. Madrid, t. 2, 1903 fasc. 4) beschriebene. Verf. verwendete gewöhnlich eine ein- bis 2prozentige Lösung von salpetersaurem Silber, in der kleine Hautstückchen bei 34 bis 36° C. 3 bis 5 Tage verblieben, worauf dieselben nach raschem Auswaschen in destilliertem Wasser in das reduzierende Gemisch von Formol und Pyrogallol für einen bis 2 Tage übertragen wurden. Dann abermaliges kurzes Ausspülen in destilliertem Wasser, Härtung in absolutem Alkohol, Celloïdineinbettung.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Goldstein, K., Untersuchungen über das Vorderhirn und Zwischenhirn einiger Knochenfische [nebst einigen Beiträgen über Mittelhirn und Kleinhirn derselben]. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 135—219 m. 23 Fig. u. 5 Tfln.).

Außer der Degenerationsmethode, die nur selten befriedigende Resultate gab und der Weigertschen Markscheidenfärbung kamen noch eine Reihe anderer Methoden zur Anwendung, so Färbung der Fasern mit Osmium. Sie zeigt viel reichhaltigere Fasermassen als die Weigertsche Methode, läßt aber bei stärkerer Vergrößerung und besonders in Faserfilzen wegen der starken Körnung keine sicheren Schlüsse zu. Weiter kam zur Verwendung Silberimprägnation

der Achsenzylinder nach Ramón y Cajal (Fixierung in Ammoniakalkohol: Behandlung mit Sibernitrat, Reduktion mit Hydrochinon). Die Resultate waren äußerst zufriedenstellend. Die Vorzüge der Methode gegenüber der Weigertschen bestehen darin, daß sie einerseits auch die marklosen Fasern zur Anschauung bringt, anderseits neben den Fasern auch die Zellen färbt, so daß man die Faserzüge viel deutlicher bis in ihre Kerne verfolgen kann. Ein Nachteil der Methode liegt jedoch zweifellos in der großen Fülle des Gefärbten, die besonders die Abgrenzung der größeren Systeme, die bei der Weigertschen Färbung so gut zum Ausdruck kommen, erschwert. Schließlich wurden noch Zellfärbungen mit Thionin nach Nissl und mit Alaunkochenille nach Fixation in Zenkerscher Flüssigkeit gemacht.

E. Schoebel (Neapel).

Berliner, K., Beiträge zur Histologie und Entwicklungsgeschichte des Kleinhirns, nebst Bemerkungen über die Entwicklung der Funktionstüchtigkeit derselben (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 220—269 m. 19 Figg. u. 1 Tfl.).

Der erste Teil der Arbeit ist den von Denissenko als Eosinzellen bezeichneten Gebilden der Körnerschicht des Kleinhirns gewidmet. Was die Technik der diesbezüglichen Untersuchungen betrifft, so lieferten zur Fixierung Alkohol, Zenkersche Flüssigkeit, Pikrinsublimatlösung, Chromoxalsäure nach Graf, 5prozentige Lösung von doppelt chromsaurem Kali, Müllersche Flüssigkeit, das Erlickische Gemisch und Formol brauchbare und prinzipiell übereinstimmende Resultate; allerdings erwies sich das letztgenannte Reagens nicht immer als zuverlässig. Das hauptsächlichste Charakteristikum für das Verhalten der eosinophilen Körper bei der Färbung ist die ausgesprochene Affinität zu sauren Farbstoffen: Eosin, Bleu de Lyon, Orange G, Rubin S, sowie zu besonderen Farbgemischen, wie z. B. dem von Mallory angegebenen phosphor-wolframsaurem Hämatoxylin. Für die Doppelfärbung mit Eosin und polychromem Methylenblau nach Unna erwies sich folgendes Vorgehen als bestes: Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit, Paraffineinbettung, Färbung erst etwa 15 Minuten in einer konzentrierten wässerigen Eosinlösung und dann 6 bis 12 Stunden bis zur Durchsichtigkeit (ca. 1 : 50) verdünnten Lösung von Unnas polychromem Methylenblau, schließlich Differenzierung in 96prozentigem Alkohol bis das Präparat eine rotviolette Farbe zeigt. *E. Schoebel (Neapel).*

Porta, A., Ricerche anatomiche sull'apparecchio velenifero di alcuni pesci (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 9, 10, p. 232—247 c. 2 tavv.).

Es wurde eine Anzahl verschiedener Arten von Plagiostomen und Teleostiern untersucht. Zur Fixation wurden verwandt: Sublimat in gesättigter, wässeriger Lösung, alkoholische Sublimatlösung mit Eisessig, Pikrinsäure und Chromsäure. Entkalkt wurde mit 2prozentiger Chromsäurelösung und mit der Methode von Rousseau: Die fixierten und gut in Celloïdin eingebetteten Stücke kommen in 90prozentigen Alkohol, dem 20 Prozent Salpetersäure zugesetzt sind, für 12 bis 24 Stunden, dann in 90prozentigen Alkohol mit Zusatz von kohlensaurem Kalk zur Neutralisierung (aber allmählich bis ungelöste Stückchen übrig bleiben). Dann Übertragen in reinen 90prozentigen Alkohol und Schneiden. Verf. hat gute Resultate mit der gemischten Einbettung erhalten. Die Serienschnitte wurden gefärbt mit dem Neapeler Boraxkarmin, mit Hämalaun und mit Thionin. *Schiefferdecker (Bonn).*

Haane, G., Über die Cardiadrüsen und Cardiadrüsenzone des Magens der Haussäugetiere (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1905, Anat. Abt., H. 1, p. 1—32 m. 1 Tfl.).

Der den eben getöteten Tieren rasch entnommene Magen wurde sofort aufgeschnitten und entleert; dann wurden Stücke ausgeschnitten: längere Schleimhautstreifen aus verschiedenen Stellen der Cardiaregion, besonders aber von den Grenzpartien derselben: Cardia-Pylorusgrenzregion, Cardia-Fundusgrenzregion, Cardia-Oesophagusgrenzregion; beim Schweine auch Schleimhautstücke aus dem Diverticulum ventriculi. Die vorsichtig und rasch gereinigten Schleimhautstreifen wurden in die Fixierungsflüssigkeit gebracht: heiß gesättigte Sublimat-Kochsalzlösung mit einigen Tropfen Eisessig. Nach 24 Stunden Auswaschen in fließendem Wasser; steigender Alkohol; Paraffineinbettung. Färbung gewöhnlich mit Hämateïn und Eosin; für Mucin: 1) Hämatoxylin-Delafield und Eosin; 2) Hämateïn und Mucikarmin oder Bismarckbraun; 3) Muchämateïn und Erythrosin; 4) Toluidinblau. Für elastische Fasern Fuchsin-Resorzin; für Muskelgewebe Hämateïn mit Säurefuchsin-Pikrinsäure; für Sekretkapillaren, Kitt- und Schlußleisten Eisenalaunhämatoxylin mit Erythrosin. Zur Feststellung der mikrochemischen Eigenschaften der Cardiadrüsenzelle wurde noch eine Reihe weiterer, neutraler, basischer und saurer Anilinfarben verwendet, wie Aurantia, Indulin, Orange etc.

Schiefferdecker (Bonn).

Bartel, J., u. **Stein, R.,** Lymphdrüsenbau und Tuberkulose (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1905, Anat. Abt., H. 2, 3, p. 141—158 m. 1 Tfl.).

Die Methode, welche die Verf. angewendet haben, um das bindegewebige Gerüst in den Lymphdrüsen zu studieren, beruht im wesentlichen auf einer modifizierten MALLORYschen Methode, wie sie bereits von WOOLLEY[1] angewendet worden ist. Die Methode war die folgende: Die in ZENKERscher Flüssigkeit fixierten Objekte werden in Paraffin eingebettet. Die Schnitte werden in gewöhnlicher Weise auf dem Objektträger durch Antrocknen fixiert und nach Entfernung des Paraffins durch Xylol mit Alkohol und Wasser abgespült. Dann werden sie mit einer 0·1prozentigen wässerigen Säurefuchsinlösung 2 bis 3 Minuten gefärbt und dann in Wasser ausgewaschen. Sie verbleiben in einer einprozentigen Lösung von Phosphor-Molybdänsäure 5 bis 7 Minuten, werden sorgfältig in Wasser abgespült und kommen dann in ein Farbgemisch bestehend aus:

Anilinblau	0·5 g
Orange G	0·2 „
Oxalsäure	2·0 „
Destilliertes Wasser	100 cc

Hierin bleiben die Präparate etwa 20 Minuten, dann kurzes Abspülen in Wasser, absoluter Alkohol, Differenzierung in ein paar Tropfen Anilinöl, Xylol, Kanadabalsam. Man tut gut daran, die Phosphor-Molybdänsäurelösung möglichst oft zu erneuern, da sich dieselbe leicht zersetzt und dann eine grünliche Färbung annimmt. Die Differenzierung mit reinem Anilinöl ist ferner nicht so gut als eine solche mit Anilin und Xylol zu gleichen Teilen, da die mit reinem Anilinöl behandelten Schnitte sich leichter falten und ferner dadurch, daß sie Spuren von Anilin in sich zurückbehalten, rasch abblassen. Die so gefärbten Lymphdrüsenschnitte zeigen die Kapsel, die Trabekel, das Reticulum der Follikel und Markstränge und endlich das in den Rindensinus und tiefen Lymphbahnen ausgespannte Fasernetz vollständig deutlich, bis zu den feinsten Fäserchen hin leuchtend blau gefärbt. Die Lymphocyten zeigen die braunrote Kontrastfarbe des Fuchsins und heben sich von dem blauen Reticulum besser ab, als dies nach der MALLORYschen Hämatoxylinfärbung der Fall

[1]) WOOLLEY, P. G., A study of the reticular supporting network in malignant neoplasms (Johns Hopkins Hospital Bull., Jan. 1903, vol. XIV, no. 142).

ist. Die roten Blutkörperchen liegen deutlich orangegelb gefärbt in den Blutgefäßen, von welchen auch die feinsten noch durch die deutliche Blaufärbung ihrer Wand plastisch hervortreten. Das elastische Gewebe, Colloid und Schleim werden ebenfalls intensiv blau gefärbt und lassen sich von dem rotgefärbten Protoplasma deutlich unterscheiden. Die Verff. machen im allgemeinen auf die außerordentliche Verwendbarkeit dieser modifizierten Mallory-Färbung zur Darstellung bindegewebiger Substanzen und Fasernetze aufmerksam.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Petersen, O., Über sekretorische Änderungen im Epithel der ableitenden Harnwege bei einigen Säugetieren (Anat. Anz. Bd. XXVII, 1905, No. 8, 9, p. 187—199 m. 4 Tfln.).

Das Material wurde teils im frischen Zustande untersucht, teils in Formol-Müller, Sublimat, 50- bis 20prozentiger Formollösung, absolutem Alkohol, einprozentiger Osmiumsäure fixiert. Die Paraffinschnitte wurden gefärbt mit Hämatoxylin (Hansen), Eosin, Eisenhämatoxylin, Mucikarmin, der Ehrlich-Biondischen Dreifarbenmischung, Toluidinblau und Thionin (beide in wässeriger Lösung).

Schiefferdecker (*Bonn*).

Stern, M., Histologische Beiträge zur Sekretion der Bürzeldrüse (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 299—311 m. 1 Tfl.).

Fixiert wurdē meist mit 10prozentigem Formol. Nach ein- bis 2stündigem Wässern wurden die Drüsen dann mit dem Gefriermikrotom geschnitten. Die Färbung erfolgte sofort darauf entweder mit Scharlachrot nach Herxheimer allein (eventuell kombiniert mit Hämalaun-Kernfärbung) oder mit einer Mischung von gleichen Teilen Scharlachrot und einprozentiger Osmiumsäurelösung. In diesem, unmittelbar vor dem Gebrauch herzustellenden Gemisch, blieben die Schnitte 6 bis 24 Stunden; wurden dann für eine bis 2 Stunden in mehrmals gewechseltes, destilliertes Wasser gebracht, auf dem Objektträger mit Fließpapier abgetrocknet und in Glyzerinleim eingeschlossen. Die Osmium-Scharlachrot-Mischung, die nicht filtriert werden darf, obgleich sich beim Zusammengießen beider Flüssigkeiten ein starker Niederschlag bildet, ergab die besten Resultate. Versuche, die gleichen färberischen Effekte mit getrennter Behandlung (zuerst Scharlachrot und nachher Osmium und umgekehrt) zu erhalten, blieben ohne Er-

folg. Um Niederschläge im Schnitt tunlichst zu vermeiden, wurden die Gefrierschnitte häufig vor und nach der Behandlung mit Osmium-Scharlachrot, die übrigens immer in dunkeln Flaschen vorgenommen wurde, auf einige Minuten in 50prozentigen Alkohol gelegt. Außerdem wurden Schnitte, die 9 bis 16 Tage mit Osmium oder Osmiumalaun behandelt und nachher 24 Stunden in destilliertem Wasser gewässert worden waren, in Glyzerinleim untersucht. Zum Studium der lipoiden Körnchen wurden die Gefrierschnitte nach Behandlung mit 50prozentigem Alkohol 24 Stunden mit einprozentigem, wässerigem Safranin gefärbt, mit angesäuertem, absolutem Alkohol differenziert, dann für 24 Stunden in 96prozentigen Alkohol gebracht, schließlich entwässert und in Xylol-Balsam eingeschlossen. *E. Schoebel (Neapel).*

Illing, G., Über einen eigenartigen Befund in den Glandulae vesiculares und den Glandulae ductus deferentis des Rindes (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 121—127 m. 1 Tfl.).

Um zu zeigen, daß die eigentümlichen bläschenförmigen Gebilde, wie sie nach Fixierung in Sublimatkochsalzlösung und Färbung mit Hämatoxylin und Eosin, basal von den hohen zylindrischen Zellen des sekretorischen Epithels der betreffenden Organe zu konstatieren sind, nicht etwa Hohlräume sind, sondern daß es sich vielmehr um eigenartige Zellen, etwa Fettzellen, handelt, wurden zunächst die Resultate verschiedener Fixationsmittel geprüft. Sublimateisessig, Formol und Zenkersche Flüssigkeit gaben keinen weiteren Aufschluß; wohl aber die in Podwyssotzkischer Lösung (einprozentige Chromsäure 15 cc, $^1/_2$prozentige Sublimatlösung 15 cc, 2prozentige Osmiumsäure 4 cc und Eisessig 6 bis 8 Tropfen) fixierten, mit Chloroform behandelten und in Paraffin eingebetteten Präparate, die die basalen Kugelzellen intensiv schwarz gefärbt zeigen. Zur definitiven Feststellung, daß der Zelleninhalt tatsächlich Fett sei, wurden noch die gebräuchlichen Fettfarben Scharlach R, Sudan III und Indophenol angewendet. Für die Färbung mit Scharlach R wurden die Organstücke in 10prozentiger Formollösung 24 Stunden fixiert, in fließendem Wasser mehrere Stunden ausgewaschen und mit dem Gefriermikrotom geschnitten. Die Schnitte kamen vom Mikrotom ins Wasser, wurden dann kurz mit 70prozentigem Alkohol abgespült und in die von Herxheimer angegebene Farblösung (absoluter Alkohol 70, 10prozentige Natronlauge 10, destilliertes Wasser 10, Scharlach R zur Sättigung) 2 bis 3 Minuten eingelegt. Dann wurde wieder mit

70prozentigem Alkohol kurz abgespült und mit einer dünnen wässerigen Hämatoxylin-, Toluidinblau- oder Methylenblaulösung nachgefärbt, mit Wasser abgespült und in Lävulose oder Glyzerin eingelegt. Die fraglichen basalen Kugelzellen erscheinen bei dieser Methode intensiv rot gefärbt. Sudan III wurde in ganz gleicher Weise angewandt, auch die Farblösung ganz analog der von Scharlach R hergestellt, nur betrug die Färbdauer etwa 5 bis 10 Minuten. Die Resultate waren die gleich guten. Indophenol kam in einer, in 70prozentigem Alkohol gesättigten Lösung bei einer Einwirkung von ca. 20 Minuten zur Verwendung. Die Resultate waren weniger gut.

E. Schoebel (Neapel).

Meyer, P., Ein Verfahren zur Erzielung haltbarer Amyloidpräparate (Virchows Arch. Bd. CLXXX, 1905, p. 359—361).

Verf. hebt hervor, daß es sehr schwer ist, Amyloidpräparate als brauchbare Dauerpräparate (Xylol, Kanadabalsam) herzustellen. Die Herstellung eines solchen Präparates scheitert daran, daß die Anilinfarben, insbesondere das Methylviolett, welches für Kurszwecke am prägnantesten die Metachromasie zeigt, durch die der Färbung folgende entwässernde Alkoholbehandlung ausgezogen werden. Ebenso löst bei der Jodreaktion der Alkohol das Jod auf. Allerdings kann man mittels der Methode, die Schnitte vor der Entparaffinierung zu färben, sehr leicht Balsampräparate herstellen, in denen die rote Metachromasie der amyloiden Teile sehr deutlich hervortritt und beschränkt haltbar bleibt (Schmorl), aber für Kurszwecke ist diese Methode nicht geeignet. Nach verschiedenen Versuchen hat Verf. die Trocknung angewendet. Das mit Methylviolett gefärbte, mit stark verdünnter Essigsäure in bekannter Weise differenzierte und in Wasser abgespülte Präparat wird an der Luft getrocknet, dann sofort in Xylol mit nachfolgendem Kanadabalsam gebracht. Auf diese Weise bleibt die Metachromasie deutlich erhalten: in intensiv leuchtend roter, fast rubinroter Farbe treten die amyloiden Teile hervor. Die Gewebsstruktur leidet allerdings etwas, doch ist diese bei Methylviolettfärbung immer nur undeutlich. Kommt es darauf an, den Farbenunterschied festzuhalten, wie dies für Kurszwecke der Fall ist, dann sind die Bilder genügend. Die Jodreaktion auf diese Weise dauernd zu erhalten, war leider nicht möglich: Verf. schreibt dies der Paraffineinbettung zu. Dagegen gelingt es, Corpora amylacea der Prostata durch die Trocknung dauernd gelb-

braun zu erhalten, während das übrige Gewebe kaum durch die Jodierung gefärbt erscheint. Das von HARZ für Stärkekörner angegebene Jodparaffinöl hat Verf. bisher ohne Erfolg versucht zur Amyloidreaktion zu benutzen. Die Trockenmethode ist natürlich nur für aufgeklebte Paraffinschnitte verwendbar; Gefrierschnitte und Celloïdinpräparate können nicht getrocknet werden.

Schiefferdecker (Bonn).

Kraus, A., Zur Färbung der Hyphomyceten im Horngewebe (Zentralbl. f. Bakteriol. Orig. Bd. XXXVII, 1904, H. 1, p. 153—155).

Verf. stellt sich aus Methylenblau medicinale die nötige Farbstofflösung — nach MICHAELIS — derart her, daß 2 g Farbstoff in 100 ccm Wasser gelöst, dann zur Lösung 10 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge zugefügt werden und die Flüssigkeit zum Sieden erhitzt und eine Viertelstunde im Sieden erhalten wird. Dann läßt man erkalten und setzt, um eine vollständige Neutralisation zu erreichen, 10 ccm $^1/_{10}$ Normal-Schwefelsäure hinzu. Mit der so gewonnenen „Methylenazur"-Lösung färbt Verf. die pilzhaltigen Schuppen 5 Minuten lang und wäscht aus bis keine Farbwolken mehr abgehen; hiernach Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Verf. erprobte sein einfaches Verfahren, bei dem die Hyphomyceten sich blau färben, an Favus-Haaren bei Pityriasis versicolor, Herpes tonsurans, Eczema marginatum und Erythrasma. — Brauchbare, doch minder zuverlässige Färbungen der Pilze erhielt Verf. mit Methylgrünpyronin.

Küster (Halle a. S.).

B. Bakterien.

Boit, H., Einfache und sichere Identifizierung des Typhusbacillus. Jena (G. Fischer) 1905; 48 pp. 1 M.

Nach einem etwas weit ausgeholten historischen Überblick über die zahlreichen Nährböden, die zur leichteren Isolierung von Typhusbazillen im Laufe der Jahre angegeben worden sind, geht Verf. zur Behandlung seines Themas über. Er benutzte eine größere Anzahl von Typhusstämmen, die er auf dem Lakmusnutroseagar von DRIGALSKI-CONRADI prüfte im Vergleich zu andern dem Typhusbacillus nahestehenden Bakterien (hauptsächlich der Gruppe der Paratyphusbazillen).

Zur genaueren Identifizierung benutzte er dann die Agglutination und außerdem noch die Kultur in der PETRUSCHKYschen Lakmusmolke. Die andern Differenzierungsnährböden, welche häufig bei Untersuchungen auf Typhusbazillen zur Sicherstellung der wahren Typhusbazillennatur der isolierten Mikroorganismen noch herangezogen werden, glaubt Verf. bei Anwendung des DRIGALSKI-CONRADIschen Nährbodens, spezifischer einwandfreier Agglutination und der PETRUSCHKYschen Lakmusmolke bei der praktischen Typhusdiagnose entbehren zu können. Eine besondere Behandlung erfährt noch das Bacterium faecale alkaligenes PETRUSCHKY, welches von allen typhusähnlichen Bakterien dem Typhusbacillus selbst kulturell wohl am meisten ähnelt, so daß in letzter Zeit Versuche angestellt wurden, den Alkaligenes in den Typhusbacillus überzuführen, wie nunmehr aber von BERGHAUS nachgewiesen ist, mit negativem Erfolg. Durch spezifische Agglutination und die Kultur in Lakmusmolke wird sich der „Alkaligenes" — selbstverständlich eine Reinkultur vorausgesetzt — stets vom Typhusbacillus unterscheiden lassen. *W. Hoffmann (Berlin).*

Selter, Über Sporenbildung bei Milzbrand und andern sporenbildenden Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 2, p. 186).

Über die Sporenbildung der Milzbrandbazillen und die notwendigen Ursachen hierfür sind bisher trotz vielfacher diesbezüglicher Untersuchungen übereinstimmende Resultate nicht erzielt worden, besonders ist die Frage, ob der Milzbrandbacillus auch unter anaëroben Bedingungen sporifizieren könne, einwandsfrei noch nicht erledigt.

SELTER hat sich diesen Untersuchungen erneut zugewandt und systematisch die Sporenbildung in flüssigen und auf festen Nährböden und die Sporenbildung einiger Anaërobier untersucht. Die Resultate seiner ausgedehnten Experimente sind folgende:

1) Die günstigsten Nährböden zur Erzielung einer reichlichen Sporenbildung bei Aërobiern sind einfache Bouillon und Agar und besonders nach Zusatz von 2prozentigem Milchzucker.

2) 5prozentiger Glyzerinzusatz zu den Nährböden übt auf die Sporenbildung einen hindernden Einfluß aus, in nicht so erheblichem Maße auch 2prozentiger Traubenzucker.

3) Es gelingt schon durch einige wiederholte Überimpfungen auf Glyzerinagar asporogene Stämme zu erzeugen.

4) Die Sporenbildung kommt bei eintretendem Ernährungsmangel zustande, aber nur, wenn die Bazillen auf der Höhe ihrer

Entwicklung stehen, d. h. noch keinen regressiven Veränderungen unterlegen sind.

5) Die Spore bei Milzbrand wird durch Zusammenziehung des Protoplasmas gebildet.

6) Auch in unverdünntem Blutserum kann Sporenbildung bei Milzbrand eintreten.

7) Je reichlicher die Sauerstoffzufuhr, um so besser die Sporenbildung.

8) Bei Sauerstoffabschluß ist bei Milzbrand keine Sporenbildung zu erzielen.

9) Quitten- und Eibischschleim sind nicht imstande, den Sauerstoff zu ersetzen — was früher von Weil behauptet worden war. [Ref.]

10) Die Sporenbildung der Anaërobier wird durch Zusätze von Traubenzucker und Glyzerin nicht beeinträchtigt, sondern im Gegenteil begünstigt.

Die Arbeiten Selters sind mit großer Sorgfalt durchgeführt, immerhin wäre eine Bestätigung seiner Resultate besonders betreffs Absatz 10) auch von anderer Seite wünschenswert.

W. Hoffmann (Berlin).

Turban, Demonstration und Erläuterung mikroskopischer Präparate von Tuberkulose (Verhandl. d. 22. Kongresses f. innere Med., 1905, p. 438).

Der Verf. demonstrierte auf dem obengenannten Kongresse folgende Präparate von Tuberkulose, indem er sich anschließend über die angewandten Färbemethoden eingehender aussprach. Die ersten Präparate dienten dem Versuch, „Sporen“ in dem Tuberkelbazillus nachzuweisen. Um zu einem Resultate zu kommen, wandte der Verf. eine äußerst intensive Färbemethode an, da der Tuberkelbazillus, an sich schon ziemlich resistent gegen Farbstoffe, wenn überhaupt, dann solche Sporen bilden dürfte, die hochgradig widerstandsfähig gegen den Färbeprozeß sind. Zu diesem Zweck wandte Verf. längere Zeit heißes alkalisches Karbolfuchsin an. Färbte man hiermit $1^1/_2$ Stunden, ohne es aber zum Kochen kommen zu lassen, dann färbten sich in den Tuberkuloseerregern auch die sonst ungefärbt bleibenden Lücken und außerdem wurden sowohl an den Enden, als auch im Verlauf des Stäbchens dunkelrote große Kugeln oder Körner sichtbar: diese Körner überragten den Bazillenleib meist an Dicke und waren auch intensiver gefärbt. Der Verf. läßt die Frage aber unentschieden, ob die Körner als „Sporen“ oder nur

als Ernstsche Körperchen aufzufassen sind; er neigt der Ansicht zu, daß es sich um eine Chromatindifferenzierung im Bakterienplasma handeln könnte, aus der — bei anderen Arten — dann später Sporen hervorgehen. Der Tuberkelbazillus läßt es hiernach vielleicht bei diesem Anlauf zur Sporenbildung bewenden. Läßt man längere Zeit trockene Hitze einwirken, so werden nur noch vereinzelte Kugeln gefärbt, während der Bazillenkörper vernichtet ist. Hiernach wäre diesen Kugeln eine höhere Widerstandsfähigkeit zuzusprechen. Weiter machte Verf. darauf aufmerksam, daß Tuberkelbazillen in Trockenpräparaten, welche $1\frac{1}{2}$ Stunden im Trockenschrank bei 180^{0} gehalten wurden, sich mit gewöhnlichen wässerigen oder verdünnt alkoholischen Anilinfarben tingieren und ihre Säurefestigkeit bei der Entfärbung verloren haben.

Ferner konnte der Verf. mit Delafields Hämatoxylin in Präparaten von ein bis 2 Jahre alten Reinkulturen Hüllen um die Tuberkelbazillen nachweisen; letztere selbst konnten mit einer Kontrastfarbe gefärbt werden.

In Sputis lassen sich Tuberkelbazillen und elastische Fasern getrennt färben durch folgende Färbemethoden. Das Präparat wird mit gewöhnlichem Karbolfuchsin gefärbt, mit 3prozentigem salzsauren Alkohol entfärbt und mit Weigerts Färbung nachbehandelt. Die Tuberkelbazillen sind rot, die elastischen Fasern grau-blau. In anderen Präparaten demonstrierte der Verf. Auflagerungen auf elastischen Fasern, welche durch „Ansintern“ von Fett an die elastischen Fasern entstanden sind. In einem mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitt konnte Turban eine Mischinfektion von Tuberkulose und Karzinom — in Alveolen benachbart — demonstrieren.

W. Hoffmann (Berlin).

Herxheimer, K., u. Hübner, H., Über Darstellungsweise und Befund der bei Lues vorkommenden Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 26, p. 1023).

Obgleich von Schaudinn betreffs Färbung der Spirochaete pallida mitgeteilt worden ist, daß Präparate mit dem Romanowskyschen Eosin-Methylenblaugemisch gefärbt, wenig günstig ausfallen, haben die Verff. mit dieser Farblösung häufiger gut gefärbte Spirochäten gesehen; diese Spirochäten wurden aber von Schaudinn nicht als die Syphiliserreger, sondern als die nicht selten zu findenden Spirochaete refringentes gedeutet. Die Verff. färbten hierauf nach der

modifizierten GIEMSAschen Färbemethode (Färbung über Nacht in einer Mischung von 12 Teilen Eosinlösung — 2,5 cc einer einprozentigen wässerigen Eosinlösung in 500 cc Wasser — 3 Teilen Azur I — Lösung 1 : 1000 Wasser — 3 Teile Azur II — Lösung 0,8 : 1000 Wasser —) und erhielten trotz Farbstoffniederschlägen gute Bilder, wenn die Niederschläge das Aufsuchen auch erschwerten. Sie versuchten Modifikationen und benutzten eine filtrierte wässerige Lösung von Nilblau BR oder Capriblau je 1 : 1000 über Nacht 16 bis 24 Stunden. Mit Nilblau sind die Spirochäten dunkelblau und scharf gefärbt, mit Capriblau grau; jedoch stellen die Verff. über diese Methode noch weitere Mitteilungen in Aussicht. Sie empfehlen ferner, die GIEMSA-Lösung nicht fertig zu beziehen, sondern sie aus den Stammlösungen jedesmal frisch herzustellen.

W. Hoffmann (Berlin).

Giemsa, G., Bemerkungen zur Färbung der Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 26, p. 1026).

Da über die von dem Verf. angegebenen Methoden der ROMANOWSKYschen Färbung, wie aus Publikationen hervorgeht, verschiedene irrtümliche Auffassungen bestanden, hält Verf. einige Aufklärungen über die zu verwendenden Farbstoffe für notwendig. Während die ursprüngliche ROMANOWSKYsche Färbung zur Darstellung der Chromatinsubstanz in blutschmarotzenden Protozoën aus einem Gemisch von Eosin und alter Methylenblaulösung bestand, hat Verf., nachdem von anderer Seite das wirksame Agens in dieser Farbmischung erkannt, dieses Färbemittel dargestellt und als Azur eingeführt. Darauf baute sich seine erste Färbemethode auf, die in der Anwendung zweier wässerigen Lösungen bestand, von denen die eine die basischen Farbstoffe (Azur II - reines Methylenazur + reines Methylenblau āā), die andere den sauren Farbstoff des Eosin enthielt. Diese Methode gab und gibt bei einiger Übung gute Präparate, doch verderben die Lösungen leicht und die Herstellung des richtigen Mischungsverhältnisses ist infolgedessen mit einigen Schwierigkeiten verbunden. Eine einzige, gebrauchsfertige Lösung war hiernach sehr erwünscht. GIEMSA empfahl hierauf folgende Lösung:

Azur II-Eosin	3·0 g
Azur II	0·8 „
Glyzerin (MERCK)	250·0 „
Methylalkohol (KAHLBAUM I)	250·0 „

Ausführung der Färbung: Härten des sehr dünnen Ausstrichs in Alkohol absolutus (15 bis 20 Minuten). Verdünnung der Farblösung mit destilliertem Wasser in einem weiten graduierten Reagensglas unter Umschütteln, wobei man die Farblösung am besten aus einer Tropfflasche hinzufließen läßt. Übergießen der Präparate mit der soeben hergestellten Farblösung. Färbedauer 10 bis 15 Minuten. Abwaschen im scharfen Wasserstrahl etc.

Für manche Zwecke — auch für die Spirochätenfärbung — ist es empfehlenswert, zu dem Wasser vor der Mischung mit dem Farbstoff etwas Kaliumkarbonat (1 bis 10 Tropfen einer einprozentigen Lösung) hinzuzufügen.

Die Spirochaete pallida ist nach dieser Methode schon nach 15 Minuten gefärbt, am schönsten und schärfsten aber nach einer Stunde.

W. Hoffmann (Berlin).

Reitmann, K., Zur Färbung der Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 25, p. 997).

Da sowohl mit der Giemsaschen Azur-Eosinmischung als mit anderen Farbstoffen die Darstellung der Spirochaete pallida besonders für den in diesen Untersuchungen noch nicht Geübten manchmal mit Schwierigkeiten verbunden ist, suchte Verf. eine Färbemethode auszuarbeiten, mit der sich die Spirochäte schnell und intensiv färbt, so daß sie sich auch von dem „Anfänger" leicht auffinden läßt. Die Methode besteht in folgendem: Die gutgereinigten Deckgläser werden mit dem Untersuchungsmaterial in möglichst dünner Schicht beschickt, und, nachdem sie lufttrocken geworden sind, in reichlicher Menge absoluten Alkohols fixiert, und dann durch aqua destillata auf 5 Minuten in 2prozentige Phosphorwolframsäurelösung übergeführt. Hierauf wird diese Beize mit destilliertem Wasser und 70prozentigem Alkohol gründlich abgespült, das Präparat wieder in destilliertes Wasser gebracht und dann, nach Abtrocknung der nicht beschickten Fläche mit Karbolfuchsin unter Erwärmen über der Flamme bis zur intensiven Dampfbildung, wobei aber ein Aufwallen der Lösung möglichst zu vermeiden ist, gefärbt. Dann folgt Abspülen mit Leitungswasser, Schwenken in 70prozentigem Alkohol, Waschen in Wasser — bis keine Farbwolken mehr abgehen — und schließlich Trocknen.

Zellkerne erscheinen dunkel, die Spirochäten intensiv rot.

W. Hoffmann (Berlin).

Thesing, C., Ein Wort zu dem Aufsatze von Dr. Giemsa „Bemerkungen zur Färbung der Spirochaete pallida“ (Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 32, p. 1279).

Der Verf. wendet sich gegen Äußerungen von Dr. Giemsa über Bemerkungen, die der Verf. über das leichte Verderben etc. von Farblösungen gemacht hat, indem er anführt, daß er die neue Farbstofflösung Giemsas nicht erwähnt habe, welche sich aus absolutem Methylalkohol und konzentriertem Glyzerin zusammensetze. Er habe nur behauptet, daß die „alte“ Giemsa-Lösung leicht zur Verschimmelung neige, wofür vielleicht der Zusatz von Dextrin, der von den Händlern des leichten Abwägens wegen zugesetzt werde, anzuschuldigen sei. — Weiter wendet er sich gegen Giemsas Behauptung, daß die von dem Verf. in den Farblösungen gesehenen Bakterien Kristalle (!) gewesen wären. *W. Hoffmann (Berlin).*

Giemsa, G., Erwiderung zu vorstehenden Bemerkungen (Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 32, p. 1279).

In einigen kurzen Sätzen nimmt Giemsa Stellung zu den Thesingschen Behauptungen und schließt mit den Worten, daß sich die Einwände Thesings durch die inzwischen von den verschiedensten Seiten eingetroffenen Bestätigungen über die mit Giemsa-Lösung färberisch dargestellten Erreger des Syphilis – Spirochaete pallida — als grundlos erwiesen hätten. *W. Hoffmann (Berlin).*

Noeggerath u. Staehelin, Zum Nachweis der Spirochaete pallida im Blut Syphilitischer (Münchener med. Wochenschr. 1905, No. 31, p. 1481).

Zum Nachweis der Spirochaete pallida im Blut sekundär syphilitischer Menschen, was für die Entscheidung der von Schaudinn und Hoffmann entdeckten Spirochaete pallida als Ätiologie des Syphilis von eminenter Bedeutung war, empfehlen Noeggerath und Staehelin folgendes Verfahren. Mindestens 1 cc Blut (aus einer Vene oder aus dem Ohrläppchen) wird in einer ungefähr zehnfachen Menge $^1/_3$prozentiger Essigsäure aufgefangen, die Flüssigkeit zentrifugiert und die mit dem Bodensatz hergestellten Ausstrichpräparate nach Giemsa gefärbt. Diese Färbungsmethode wird durch die Vorbehandlung mit der stark verdünnten Essigsäure nicht merkbar beeinträchtigt, wenn man die Farblösung frisch herstellt und sie mehrere Stunden einwirken läßt.

Auf diese Weise fanden die Autoren die Syphiliserreger leicht und meist in großer Anzahl in luetischem Blut, während Kontrolluntersuchungen bei Nicht-Syphilitikern stets negative Resultate ergab.

W. Hoffmann (Berlin).

Baudi u. **Simonelli,** Über die Anwesenheit der Spirochaete pallida in sekundär syphilitischen Manifestationen und über die zu ihrem Nachweis angewendeten Färbungsmethoden (Münchener med. Wochenschr. 1905, No. 35, p. 1668).

Bei der Färbung der Schaudinn-Hoffmannschen Spirochäten wandten die Verff. außer der gewöhnlichen Giemsaschen Methode mehrere andere Färbemethoden an, die sogar meistens bessere Bilder boten, so die Ziehlsche Flüssigkeit und die in der bakteriologischen Praxis gebräuchlichen alkoholischen Lösungen der gewöhnlichen Anilinfarben, und zwar fixierten sie die Präparate zuerst in Alkohol oder mittels Hitze und ließen dann die Farblösungen bei Hitze wenige Sekunden einwirken. Besonders heben die Verff. hervor, daß sie häufig die Spirochäten innerhalb der Zellen vorgefunden haben, und zwar meist innerhalb der Kernsubstanz, weswegen sie von einem Zellparasitismus sprechen. Letztere Beobachtung ist von anderen Spirochätenforschern nicht gemacht worden. [Ref.]

W. Hoffmann (Berlin).

Oppenheim, M., u. **Sachs, O.,** Eine einfache und schnelle Methode zur deutlichen Darstellung der Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 29, p. 1156).

Die Verff. empfehlen folgende Färbemethode zur Darstellung der Spirochaete pallida:

Die dünnen, trocknen, nicht vorher fixierten Deckglasausstrichpräparate werden mit einer alkoholischen Karbol-Gentianaviolettlösung (5prozentige wässerige Karbolsäurelösung 100 cc, konzentrierte alkoholische Gentianaviolettlösung 10 cc) übergossen und über einer Bunsenflamme bis zur Dampfbildung vorsichtig erwärmt. Dann werden die Präparate vorsichtig mit Wasser abgespült, mit Filtrierpapier getrocknet, in Kanadabalsam eingeschlossen und dann untersucht. Die Spirochaete pallida ist deutlich blau.

Die Verff. empfehlen die Methode wegen ihrer leichten Ausführbarkeit. *W. Hoffmann (Berlin).*

Smith, E. F., Bacteria in relation to plant diseases. Vol. 1. Methods of work and general literature of bacteriology exclusive of plant diseases. Washington D. C., 1905.

In einem Kapitel gibt Verf. eine Reihe von Färbungsrezepten. Von Geißelfärbungsmethoden erwähnen wir: 1) V. A. Moores Geißelfärbung. Nachdem man das Bakterienhäutchen auf dem Deckglas dadurch befestigt hat, daß man es 5 bis 10 Minuten lang einer Temperatur von 120° bis 140° ausgesetzt hat, bringt man das Objekt zur Beize in ein Reagierrohr, das folgende Beize enthält: 10 cc 20prozentige Tanninlösung, 5 cc kalte, gesättigte, wässerige Eisensulfatlösung, 1 cc gesättigte, alkoholische Lösung von basischem Fuchsin, oft vorteilhaft auch 1/2 cc einprozentige Natronlauge. Man erhitzt bis zur Dampfentwicklung und läßt das Objekt 5 bis 10 Minuten lang in der heißen Flüssigkeit. Dann wäscht man das Objekt in Wasser aus und färbt wieder in einem Reagierrohr mit Ziehls Karbol-Fuchsin, indem man 1 bis 3 Minuten lang bis zur Dampfentwicklung erhitzt. Ein gekrümmter Platindraht dient zum Herausholen des Objektes aus dem Reagierrohr. 2) Hugh Williams Methode. Bakterium und Geißel werden schwarz gefärbt. Man beizt, indem man das Deckglas nicht ganz eine Minute lang mit folgender Beize bedeckt: 1 Teil einprozentige Alumnollösung (Meister, Lucius und Brüning), 1 Teil 2prozentige Osmiumsäure, 3 Teile 20prozentige Tanninlösung. Nach Schütteln der Mischung muß man 3 Tropfen Eisessig zufügen und wieder schütteln. Dann bedeckt man das Objekt mit einprozentiger Silbernitratlösung, der einige Tropfen Ammoniakwasser zugefügt sind. Dabei werden die Geißeln mit Silber imprägniert. Auswaschen mit Wasser. Um den Austritt von Silber und ein Festsetzen austretender Silberteilchen auf dem Deckglas zu verhüten, wäscht man aus mit 0·6prozentiger Chlornatriumlösung, mit 30prozentigem Ammoniakwasser, dann mit Wasser. Nun verstärkt man die Imprägnation durch Gold und Quecksilber auf folgende Weise. Nachdem man einige Tropfen photographischen Entwickler Ortol hinzugefügt hat, wäscht man mit Wasser, bedeckt einige Sekunden mit einprozentiger Chlorgoldlösung, wäscht, gibt Entwickler zu, wäscht, bedeckt einige Sekunden mit Quecksilberchlorid (einprozentige Lösung), wäscht und fügt wieder Entwickler hinzu. Das Waschen, Bedecken mit Chlorgold und Entwickler muß zwei oder mehrere Male wiederholt werden. Nach jeder Behandlung mit Chlorgold muß man den Verlauf der Färbung mit starken Vergrößerungen kontrollieren.

3) DUCKWALLS Methode. Ausstriche auf 2prozentigem Agar in PETRI-Schalen von jungen Bouillonkulturen. Suspensionen in Wasser. Pigment und Schleim werden durch Schütteln mit Chloroform entfernt. Die Beize muß stets frisch verwendet werden. Färbung nach LÖFFLER ohne Überhitzung. Vorsichtig in Alkohol und Wasser waschen, in Xylol aufhellen und ohne vorhergehende Prüfung einbetten.

Von den Kapselfärbungen teilen wir mit: RICHARD MUIRS Kapselfärbung. Die getrockneten Häutchen werden 2 Minuten gebeizt mit: Gesättigte, wässerige Quecksilberchloridlösung 2 Teile, 20prozentige, wässerige Tanninlösung 2 Teile, gesättigte, wässerige Kaliumalaunlösung 5 Teile. Dann waschen mit Wasser, Alkohol, wieder mit Wasser, 2 bis 3 Minuten lang bei leiser Hitze mit Karbolfuchsin färben, waschen mit Wasser, 2 bis 3 Minuten wiederum beizen, wieder waschen. Dann färben mit gesättigter, wässeriger Lösung von Methylenblau 2 Minuten lang, bleichen in Methylalkohol, aufhellen in Xylol. *Freund (Halle a. S.).*

C. Botanisches.

Grafe, V., Eine neue Reihe von Holzreaktionen (Österr. Botan. Zeitschr. Bd. LV, 1905, p. 174).

Das Interesse der vorliegenden Mitteilung liegt darin, daß sie mit einigen neuen, der aliphatischen Reihe entstammenden Holzreagentien bekannt macht.

Verf. setzt zu einer Lösung von Vanillin einige Tropfen Isobutylalkohol und läßt an der Reagenzglaswand ein wenig Schwefelsäure (spez. Gew. 1·84) hinabfließen. Unter starkem Erwärmen färbt sich dabei die Probe dunkelrot mit starkem Stich ins Blaue. Nach kurzer Zeit erscheint die Flüssigkeit im durchfallenden Licht violett, im auffallenden blau, nach längerem Stehen wird sie durchaus blau; nach entsprechender Verdünnung mit Alkohol und abermaligem Säurezusatz blaugrün bis hellgrün. Die Nuance ist übrigens weniger von der Probenkonzentration als von der Menge des zugesetzten Reagenz abhängig. Verf. empfiehlt ein einheitliches Reagenz sich herzustellen: Auf 30 cc Isobutylalkohol 15 cc Schwefelsäure. Die Mischung färbt sich hell- bis dunkelrot, es entwickelt sich Schwefeldioxyd. Behandelt man Holzmehl mit einigen Tropfen der Reagenzmischung, so färbt sich das Holz (infolge der Schwefel-

säurewirkung) schwärzlich; verdünnt man mit wenig Alkohol und schüttelt man das Reagenzglas, so zeigen die an der Wand anhaftenden Holzteilchen blaue bis blaugrüne Färbung, die Flüssigkeit nimmt dasselbe Rotviolett an, wie es vorhin für die Vanillinlösung angegeben wurde. — Behandelt man mikroskopische Schnitte durch verholzte Gewebe mit dem Reagenz, so färben sich diese zunächst rotviolett und erst nach längerer Zeit blau. Verf. hält es für ratsam, die Schnitte nicht länger als etwa eine Stunde in dem Reagenz liegen zu lassen, und sie dann in Glyzerin zu übertragen. Im allgemeinen erscheinen dann die Zellen prächtig blau, einige aber auch grün und rotviolett; vielleicht hängt die Verschiedenheit in der Färbung mit dem Grad der Verholzung zusammen; es wäre möglich, daß das Reagenz die Verholzungsintensität zu beurteilen gestattet. Warum die Blaufärbung erst im Glyzerin deutlich wird, ist noch nicht ermittelt.

Ebenso wie Butylalkohol wirken auch Amyl- und Hexylalkohol. Verf. hebt hervor, daß einige Substanzen, die keinen „Holzstoff" enthalten und gleichwohl mit den Wiesnerschen Reagentien sich färben (Kaffeesäure, Ferulasäure), mit dem neuen Reagenz keine Färbung geben. Pikronat liefert zwar ein intensives Rotviolett, das aber schnell in Grasgrün übergeht. — Die mit Isobutylalkohol-Schwefelsäure gefärbten Schnitte sind nur für 5 bis 6 Tage haltbar.

Weiterhin findet Verf., daß Isobutylaldehyd, mit Schwefelsäure zusammengebracht, ebenfalls ein brauchbares Holzreagenz abgibt. Bringt man mikroskopische Schnitte in einen Tropfen der Mischung, so färben sie sich nach und nach rötlich; legt man sie nach etwa einer Stunde in Glyzerin, so werden sie weinrot bis rotviolett. *Küster* (*Halle a. S.*).

Hus, Henri T. A., Spindle Formation in the Pollen-Mother-Cells of Cassia tomentosa B. (Proc. of the California Acad. of Sci. 3. Ser. Bot. vol. II, 1904, no. 11, p. 329—354).

Beim Fixieren hat Verf. 36 verschiedene Lösungen verwendet. Am besten wirkte konzentrierte Flemmingsche Lösung, wenn nicht länger als 10 bis 12 Stunden fixiert wurde. Bei längerem Fixieren und bei allen andern Lösungen (außer der Tellyesniczkyschen Flüssigkeit) schrumpfte das Gewebe etwas. Sogleich beim Sammeln muß fixiert werden. Das Waschen darf nicht länger als 6 bis 8 Stunden dauern: langer Aufenthalt in den schwächeren Alkohol-

lösungen ist gleichfalls schädlich. Zum Einbetten wurde Paraffin mit einem Schmelzpunkt von 71° C. verwendet. Beim Färben verfährt Verf. folgendermaßen: Nach Ablösen des Paraffins durch Xylol und zweimaligem Waschen mit 95prozentigem Alkohol wurde in Safraninlösung (gleiche Teile von gesättigter alkoholischer und gesättigter wässeriger Lösungen) 5 Minuten gefärbt, danach mit absolutem Alkohol (Zusatz von 0·1prozentiger Salzsäure) entfärbt und mit Wasser abgespült, bis keine Spur mehr von Salzsäure blieb. Dann wurde 5 Minuten in gesättigter wässeriger Gentianaviolettlösung gefärbt, 20 Sekunden mit Jodjodkalilösung (Jod 1 Teil, Jodkali 4 Teile, Wasser 3000 Teile) differenziert, eine Sekunde mit absolutem Alkohol entwässert und in Nelkenöl aufgehellt. So bleiben die achromatischen Fäden blaugefärbt; bei Zusatz von Orange G. statt Jodjodkalilösung, werden sie total entfärbt.

Ernst A. Bessey (Miami).

Thomson, R. B., The Megaspore-membrane of the Gymnosperms (University of Toronto Studies, Biological Series, 1905, no. 4).

Außer bei den Taxaceen besitzt bei jeder Gruppe der Gymnospermen das Prothallium (Makrospore) eine Sporenmembran. Bei den Araucarien ist sie einfach; bei den übrigen Familien besteht sie, wie bei den Pteridophyten, aus zwei Schichten (Exine und Intine). Durch Chlorzinkjod wird die Exine gelbbraun, die Intine dagegen äußerlich braun, mitten violett und innerlich weniger intensiv violett gefärbt. Durch Schwefelsäure und Jod wird die Exine dunkel gelbbraun gefärbt. Von außen nach innen nimmt die Intine folgende Farben an: gelblichbraun, gelb, grüngelb, blau und wieder grüngelb. Diese Farben sind bezw. dunkelrot, rötlichviolett, violett, dunkel- und hellgelb nach Behandlung mit einer sehr verdünnten Lösung von Ehrlichschem saurem Hämatoxylin und Alaunlösung und danach mit verdünnter wässeriger Safraninlösung. Dabei wird die Exine kirschrot gefärbt.

Verf. schließt aus diesen verschiedenen Reaktionen, daß die Exine verkorkt ist; die Intine dagegen soll nur äußerlich verkorkt, mitten reine Zellulose sein und innen aus Pektinverbindungen bestehen.

Ernst A. Bessey (Miami).

Ferguson, Margaret C., Contributions to the knowledge of the life history of Pinus with special re-

ference to sporogenesis, the development of the gametophytes and fertilization (Proc. Washington Acad. Sci. vol. VI, 1904, p. 1—202, pls. 1—24).

Das zu fixierende Material wurde von mehreren Bäumen genommen, um irgendwelche individuelle Eigentümlichkeiten bei einzelnen Bäumen auszuschließen. Folgende Fixierungsflüssigkeiten wurden probiert: Chromosmiumessigsäure, Chromessigsäure, Sublimat (wässerige Lösung), absoluter Alkohol und das Carnoysche Gemisch. Die beste Formel war folgende, die fast ausschließlich von der Verfasserin verwendet worden ist:

Chromsäure (Kristalle)	1·3 g
Osmiumsäure	0·5 „
Eisessig	8·3 „
Destilliertes Wasser	160·0 cc

Beim Fixieren vom Prothallium mit nur noch einer wandständigen Plasmaschicht mit freien Kernen wurde diese Flüssigkeit auf die Hälfte verdünnt und nur 15 Stunden lang angewendet; für andere Entwicklungsstadien wurde sie unverdünnt 24 Stunden lang benutzt. Bei Schwarzwerden der Lösung wurde frische zugesetzt. Das Waschen hat 2 bis 12, meistens 6 Stunden gedauert. Es wurden 8 Konzentrationsstufen des Alkohols beim Entwässern benutzt. In den niederen Stufen, sowie im absoluten Alkohol darf man das Material nicht über 6 Stunden liegen lassen. Nach 12stündigem Entwässern in 85prozentigem Alkohol wurde durch folgende Lösung entfärbt: 35 Teile pro Hundert Wasserstoffsuperoxydlösung in 95prozentigem Alkohol. Das Aufhellen in Zedernöl dauerte mitunter 3 bis 4 Wochen ohne Nachteil. Beim Einbetten benutzte Verf. Gemische von 25, 50 und 75 Teilen pro Hundert Paraffin mit Zedernöl und endlich Paraffin mit einem Schmelzpunkt von 54° C. Der Flemmingsche Dreifarbenprozeß und das Heidenhainsche Hämatoxylin erwiesen sich als die besten beim Färben. Beim Gebrauch des letzteren wurde oft nachträglich mit Orange G, Bismarckbraun, Flemmingschem Gemisch oder Gentianaviolett und Orange G gefärbt, um den kinoplasmatischen Bau deutlich sichtbar zu machen. *Ernst A. Bessey (Miami).*

Haberlandt, G., Über die Plasmahaut der Chloroplasten in den Assimilationszellen von Selaginella Martensii Spring. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XXIII, 1905, H. 9, p. 441).

Auf den muldenförmigen Chloroplasten der Trichterzellen von Selaginella Martensii findet Verf. eine besondere Plasmahaut, die durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen und ihre scharfe Umgrenzung auffällt. — Besonders wenn man frische Schnitte mit Alkohol fixiert und entfärbt. Parakarmin und Boraxkarmin, Eosin, Safranin und Fuchsin färben die Plasmahaut nur schwach, besser färben Pikrinanilinblau, Methylenblau und Methylgrün. Verf. empfiehlt die Schnitte unter dem Deckglas mit Alkohol zu fixieren und zu entfärben, dann mit Fließpapier einige Tropfen ziemlich stark verdünnter Pikrinanilinblaulösung durchzuziehen und diese einige Minuten wirken zu lassen. Wenn das Cytoplasma sich bläut, die Chloroplasten aber noch ungefärbt sind, ersetzt man die Farblösung durch Glyzerin. Von dem violettblauen Cytoplasma hebt sich dann in Zellen, deren Färbung gut gelungen ist, die Plasmahaut grünlichblau ab. — Mit der folgenden Methode läßt sich eine gute Doppelfärbung erzielen. Man läßt die mit Alkohol vorbehandelten Schnitte 10 bis 20 Minuten in ziemlich stark verdünnter Fuchsin-Methylgrünlösung liegen — eventuell noch länger — und überträgt sie dann in Glyzerin: das Cytoplasma erscheint blaßrot, die Chloroplasten intensiv rot, die sie bedeckende Plasmahaut blau. Minder vorteilhaft sind die mit Eosin-Methylenblau erzielten Färbungen. — Verdünnte Kalilauge und Salzsäure bringen die Plasmahaut zum Quellen, in Eau de Javelle löst sie sich. Bemerkenswert ist die Unverdaulichkeit der mit Alkohol vorbehandelten Plasmahäute in Pepsinsalzsäure (bei 34° C.). — Die feinere Struktur der Plasmahäute wird an Material deutlich, das mit Chromosmiumessigsäure oder Kaiserschem Sublimateisessig fixiert und nach Bendas Eisenhämatoxylinmethode gefärbt wird. Die Plasmahaut erweist sich dabei zusammengesetzt aus regelmäßig aneinandergereihten kleinen Körnchen.

Küster (*Halle a. S.*).

Chamberlain, Ch. J., Methods in Plant Histology. Second edition Chicago (Univ. of Chicago Press) 1905; 262 pp.

Das vorliegende Lehrbuch erscheint bereits in zweiter Auflage, die gegen die erste mancherlei Bereicherungen erfahren hat. Der erste Teil berichtet über das Technische im allgemeinen, über den Gebrauch der nötigen Apparate, über Fixierungs- und Färbungsmethoden, Aufhellungs- und Einschlußmittel etc., der zweite über die Behandlung besonderer Materialien. Algen, Pilze, Moose etc. werden der Reihe nach durchgesprochen, die Gewinnung des geeigneten Materials wird behandelt und neben vielem Bekannten mancher be-

achtenswerte neue Wink gegeben. Die Namen mancher bekannter europäischer Autoren wiederholt Verf. konsequent in falscher Orthographie. *Küster* (*Halle a. S.*).

D. Mineralogisch-Petrographisches.

Rosenbusch, H., Mikroskopische Physiographie der Mineralien und Gesteine. Ein Hilfsbuch bei mikroskopischen Gesteinsstudien. 4. Aufl., Bd. I, 2. Hälfte; VIII + 402 pp. m. 20 Tfln., 206 Figg. und einem Anhang: Hilfstabellen zur mikroskopischen Mineralbestimmung. Stuttgart 1905.

Ebenso wie der erste allgemeine Teil des Werkes (vgl. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 540) hat auch der jetzt vorliegende zweite Teil des ersten Bandes in der neuen Auflage eine völlige Umgestaltung erfahren. Entsprechend den vielfachen Anwendungen, welche graphische Methoden während des letzten Jahrzehnts in der Petrographie erlangt haben, treten dieselben auch in diesem Buch weit mehr als früher hervor, so z. B. sind 7 neue Tafeln, welche in stereographischer Projektion die zur mikroskopischen Bestimmung der Feldspate dienenden Diagramme enthalten, besonders hervorzuheben. Während die kristalloptischen und Struktureigenschaften der Mineralien natürlich den Hauptinhalt dieses Bandes bilden, sind doch auch die mikrochemischen Eigenschaften eingehend berücksichtigt. In einem Anhang sind die wichtigsten optischen und kristallographischen Konstanten der gesteinsbildenden Mineralien tabellarisch zusammengestellt; der Anhang ist im Vergleich zu den früheren Auflagen neu, und war bisher nur separat in einer weniger vollständigen Form erschienen. Der zweite Band des umfangreichen und einzig dastehenden Werks erst wird die Gesteine behandeln, obgleich auch in diesem Teil schon viele für die Struktur der Gesteine wichtige Tatsachen ausgeführt und in erschöpfendster Weise die Grundlagen für die eigentliche Petrographie dargelegt werden.

E. Sommerfeldt (*Tübingen*).

Brunnee, R., Polarisations-Mikroskoppolymeter (Zentralbl. f. Min., Geol. Paläont. 1905, p. 593—595 m. 1 Fig.).

Das Instrument unterscheidet sich von einem gewöhnlichen

mineralogischen Mikroskop nur durch die Art der Feineinstellung. Es ist die Mikrometerschraube durch eine am Tubus angebrachte Trommel ersetzt, in welcher sich ein kreisförmiger Keil mit schwacher Steigung befindet. Die Feineinstellung des Objektivs erfolgt durch Gleiten eines Schiebestückes, welches mit dem Objektiv verbunden ist, längs dieses Keiles, so daß eine gleichzeitige Drehung des Objektivs um die Instrumentachse während der Feineinstellung erfolgt. Dieser Mechanismus erleichtert zugleich eine Drehung des Innennikols, die sowohl unabhängig vom Polarisator, als auch zugleich mit diesem (mittels einer nicht neuen Zahnradübertragung) erfolgen kann. Bedenklich scheint dem Ref. nur das vermutlich hohe Gewicht der Vorrichtung, worüber sich Angaben nicht vorfinden. Namentlich bei dem oft notwendig werdenden Einsetzen weiterer Hilfsattribute auf den Tubus würde die Triebbewegung, welche sich weit außerhalb der Instrumentachse befindet, einer sehr starken Abnutzung unterliegen, indem sowohl die Feineinstellungstrommel als auch sonstige am Tubus befindliche Teile mit einem großen Hebelarm auf die Zahn- und Triebbewegung drücken.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Weinschenk, E., Über die Skeletteile der Kalkschwämme (Zentralbl. f. Min., Geol. u. Paläont. 1905, p. 581—588).

Angeregt durch zoologische Untersuchungen von O. Maas über die Skelettbildung der Kalkschwämme verfolgt der Verf. die hierbei auftretenden physikalisch-chemischen Prozesse hinsichtlich ihrer Bedeutung für die Geologie. Es zeigte sich, daß die Spongien den im Meerwasser enthaltenen Kalk nur insofern zum Aufbau ihrer Nadeln brauchen können, als er in der Form des Bikarbonats sich in Lösung befindet, daß dagegen der Kalksulfatgehalt des Meerwassers hierfür unverwertbar ist. Der Verf. untersucht nun die spezielle Reaktion, welche zur Karbonatausscheidung führt und weist die Annahme Bütschlis, daß ein Doppelsalz von Calcium- und Kaliumkarbonat existiere und bei diesen Vorgängen in Betracht komme, zurück. Sodann wird aus der relativ leichten Angreifbarkeit der Skelette durch Kalilauge, sowie aus einigen weniger wichtigen Ursachen auf das Vorhandensein von submikroskopischen Einschlüssen organischer Stoffe innerhalb der Kalksubstanz geschlossen. Schließlich wird das gegenseitige Verhältnis der verschiedenen Modifikationen des $CaCO_3$ — nämlich des Aragonit, Calcit und Conchit bei diesen Vorgängen behandelt. *E. Sommerfeldt (Tübingen).*

Prytz, K., Mikroskopische Bestimmung der Lage einer spiegelnden Fläche. Optischer Kontakt (Ann. d. Phys. [IV] Bd. XVI, 1905, p. 735—746).

Um die Orientierung einer spiegelnden Fläche auf mikroskopischem Wege zu ermitteln, benutzt der Verf. ein der Autokollimationsmethode ähnliches Verfahren. An Stelle des sonst üblichen totalreflektierenden Prismas oder schräge gestellten Spiegels wird jedoch ein hakenförmiger Glasstab in den Tubus eingeführt, welcher sowohl das zu reflektierende Signal trägt, als auch die Beleuchtung desselben vermittelt. Das Signal befindet sich an der sehr kurzen und dem Objektiv zugekehrten Spitze des Glashakens; dieser ist versilbert und es wird das Licht einer seitwärts aufgestellten Lichtquelle mittels dieses „Lichtleiters“ in die Instrumentachse abgelenkt, um bei geeigneter Stellung des Mikroskopes senkrecht auf die spiegelnde Fläche aufzufallen. Da das Signal aber durch die Krümmung des Glashakens verdeckt wird, bedient sich der Verf., um es dennoch bei senkrechter Incidenz sichtbar zu machen, zweier Prismen mit sehr kleinem brechendem Winkel, welche das reflektierte Licht um einen bekannten Betrag ablenken. Dem Ref. will scheinen, daß mittels des gewöhnlichen Autokollimationsverfahrens, wie es für mikroskopische Zwecke namentlich von Fedorow ausgearbeitet ist, der vom Verf. erstrebte Zweck bequemer erreicht wird.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Bäckström, H., Ein Kugelgranit von Spitzbergen (Geol. Föreningens: Stockholm Förhandlinger Bd. XXVII, 1905, p. 254—259 m. 1 Taf.).

Während in den meisten Fällen die kugelige Absonderung bei Eruptivgesteinen mit einer wesentlichen Änderung der chemischen Zusammensetzung verbunden ist, ist der vom Verf. neuaufgefundene Granit aus Spitzbergen innerhalb und außerhalb der Kugeln gleich konstituiert, was durch mikroskopische Mineralbestimmung an den Gesteinsschliffen nachgewiesen wird. Hieraus werden einige Folgerungen über die Aufeinanderfolge der einzelnen Mineralien bei der Erstarrung des Gesteinsmagmas gezogen.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Abbe, E., Gesammelte Abhandlungen. Bd. II. Wissenschaftliche Abhandlungen aus verschiedenen Gebieten. Patentschriften. Gedächtnisreden.) Jena (Gust. Fischer) 1906; IV + 346 pp., 7 Tfln. u. 16 Figg. i. Text. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 544.) geb. 9 M.

Böhmer, C., Anleitung zur Untersuchung landwirtschaftlich wichtiger Stoffe. Zum Gebrauch in landwirtschaftlichen und agrikulturchemischen Laboratorien und für die Praxis zusammengestellt und bearbeitet. Berlin (P. Parey) 1906. 135 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 545.)

Chamberlain, Ch. J., Methods in Plant Histology. Second edition Chicago (Univ. of Chicago Press) 1905; 262 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 585.)

Ehrmann, S., u. Fick, J., Einführung in das mikroskopische Studium der normalen und kranken Haut. Ein Leitfaden für Ärzte und Studierende. Wien (Hölder) 1905; V, 104 pp., 1 Tfl. u. 21 Figg.

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Degen, A., Untersuchungen über die kontraktile Vakuole und die Wabenstruktur des Protoplasmas (Botan. Zeitg. Bd. LXIII, 1905, p. 163; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 552).

Halphen, G., et Riche, A., Contribution à l'étude des teintures histologiques (C. R. Acad. Sc. Paris t. CXL, 1905, p. 1408—1410; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 546).

Mark, E. L., A paraffine bath heated by electricity (American Natural. vol. XXXVII, 1903, no. 434, p. 115—119 w. 2 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 548).

Nabias, B. de, Les anilines substituées et les composés phénoliques comme agents de virage de l'or dans les tissus (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LVIII, 1905, no. 25, p. 152—154).

Remlinger, P., Une cause d'erreur dans l'étude des organismes ultramicroscopiques (C. R. Soc. Biol. t. LVIII, 1905, no. 23, p. 1052—1053).

Růžička, V., Über tinktorielle Differenzen zwischen lebendem und abgestorbenem Protoplasma (Pflügers Arch. Bd. CVII, 1905, H. 10—12, p. 497—534; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 548).

Schridde, H., Beiträge zur Lehre von den Zellkörnelungen. Die Körnelungen der Plasmazellen (Anat. Hefte, H. 85, 86 [Bd. XXVIII, H. 2, 3], 1905, p. 691—768 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 550).

Stoeltzner, W., Über Metallfärbungen verkalkter Gewebeteile (Virchows Arch. Bd. CLXXX, 1905, H. 2, p. 362—365; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 545).

Tartuferi, Ferruccio, Su di una terza nuova impregnazione metallica dei tessuti e specialmente della cornea (Ann. Ottalmol., Anno XXXIV, Fasc. 1, 2, p. 74—78 u. Bull. Sc. med., Anno LXXV, Ser. 8, vol. IV, Fasc. 12, p. 589—592).

Wederhake, Zur mikroskopischen Schnelldiagnose (Zentralbl. f. Gynäkol. Jahrg. XXIX, 1905, No. 25, p. 785—790).

Wolfrum, Celloïdintrockenmethode (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. XLIII, 1905, H. 2, p. 61—64).

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Wirbeltiere.

Bartel, J., u. Stein, R., Lymphdrüsenbau und Tuberkulose (Arch. f. (Anat. u. Physiol. 1905, Anat. Abt., H. 2, 3, p. 141; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 568).

Berliner, K., Beiträge zur Histologie und Entwicklungsgeschichte des Kleinhirns, nebst Bemerkungen über die Entwicklung der Funktionstüchtigkeit derselben (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 220—269 m. 19 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 566).

Blumstein-Judina, B., Die Pneumatisation des Markes der Vogelknochen Anat. Hefte, H. 87 [Bd. XXIX], 1905, p. 1—52 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 560).

Bürker, K., Notiz über eine neue Form der Zählkammer (München. med. Wochenschr., Jahrg. LII, No. 19, p. 912; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 554).

Dogiel, A. S., Der fibrilläre Bau der Nervenendapparate in der Haut des Menschen und der Säugetiere und die Neuronentheorie (Anat. Anz. Bd. XXVII, 1905, No. 4, 5, p. 97—118 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 565).

Donaggio, A., Colorazione positiva delle fibre nervose nella fase iniziale della degenerazione primaria e secondaria, sistematica or diffusa del sistema nervoso centrale (Riv. Sperim. di Freniatr. t. XXX, fasc. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 563).

Edens, Über Amyloidfärbung und Amyloiddegeneration (Virchows Arch. Bd. CLXXX, 1905, H. 2, p. 346—359; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 558).

Goldstein, K., Untersuchungen über das Vorderhirn und Zwischenhirn einiger Knochenfische [nebst einigen Beiträgen über Mittelhirn und Kleinhirn derselben] (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 135—219 m. 23 Figg. u. 5 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 565).

Haane, G., Über die Cardiadrüsen und Cardiadrüsenzone des Magens der Haussäugetiere (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1905, Anat. Abt., H. 1, p. 1—32 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 567).

Illing, G., Über einen eigenartigen Befund in den Glandulae vesiculares und den Glandulae ductus deferentis des Rindes (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 121—127 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 570).

Kraus, A., Zur Färbung der Hyphomyceten im Horngewebe (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, 1904, H. 1, p. 153—155; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 572).

Liebreich, O., Über Blutkörperchenzählung mit dem Thoma-Zeissschen Apparat (Physiol. Ges. Berlin, Sitzung 24. Febr. 1905; vgl. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1905, Physiol. Abt., H. 3, 4, p. 385—389; diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 554).

Lugiato, L., Degenerazioni secondarie sperimentali [da strappo dello sciatico] studiate col metodo di Donaggio per le degenerazioni — prima e seconda note (Riv. Sperim. di Freniatr. t. XXX, p. 135; vgl. Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXIV, 1905, No. 11, p. 522—523; diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 563).

Medea, E., L'applicazione del nuovo metodo di Ramón y Cajal allo studio del sistema nervoso periferico (Communicazione alla Soc. med.-chir. di Pavia, 14. gennaio 1905).

Meves, F., Über die Wirkung von Ammoniakdämpfen auf die roten Blutkörperchen von Amphibien (Anat. Anz. Bd. XXVII, 1905, No. 8, 9, p. 177—186 m. 17 Abb.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 556).

Meyer, P., Ein Verfahren zur Erzielung haltbarer Amyloidpräparate (Virchows Arch. Bd. CLXXX, 1905, p. 359—361; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 571).

Myers, B. D., Fixation of tissues by injection into the arteries (Johns Hopkins Hosp. Bull. vol. XVI, 1905, no. 167, 6 pp. w. 1 fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 556).

Petersen, O., Über sekretorische Änderungen im Epithel der ableitenden Harnwege bei einigen Säugetieren (Anat. Anz. Bd. XXVII, 1905, No. 8, 9, p. 187; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 569).

Porta, A., Ricerche anatomiche sull'apparecchio velenifero di alcuni pesci (Anat. Anz. Bd. XXVI, 1905, No. 9, 10, p. 232—247 c. 2 tavv.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 567).

Ribadeau-Dumas, Application de la méthode à l'argent de Ramón y Cajal à l'étude de la rate (Bull. et mém. de la soc. anat. de Paris. Année LXXX. Sér. 6, T. 7, 1905, no. 4, p. 281—282).

Schaffer, K., Neurofibrillenpräparate nach der Bielschowsky schen Methode (Psych.-neurol. Sekt. d. kgl. Ärztevereins Budapest 1905; vgl. Neurol. Zentralbl. Bd. XXIV, 1905, No. 12, p. 588; diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 564).

Sereni, S., Sull'uso della formalina come mezzo di conservazione dei sedimenti dell'urine, dei liquidi ascitici, pleurici, ecc. (Boll. d. Soc. Lancisiana degli Ospedali di Roma, Anno XXV, 1905, fasc. 3, 11 pp., 2 figg.).

Stern, M., Histologische Beiträge zur Sekretion der Bürzeldrüse (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 299—311 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 569).

Takayama, M., Beiträge zur Toxikologie und gerichtlichen Medizin, nebst einem Vorwort von Prof. Dr. R. Kobert. 4 Tfln. Stuttgart (F. Enke) 1905. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 557).

b. Bakterien.

Buerger, L., A new method for staining the capsules of bacteria (Proc. of the New York pathol. Soc. vol. IV, 1904, fasc. 7).

Fischel, R., Bemerkungen zu den Methoden der Mikroorganismenfärbung von Waelsch und von Kraus (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXXVI, 1905, H. 3, p. 399—402).

Foà, Di un nuovo apparecchio per prelevare il campione nell'esame batteriologico dell'acqua (Atti della Soc. fiorent. d'Igiene 1904).

Gordon, M. H., A ready method of differentiating streptococci and some results already obtained by its application (Lancet vol. II, 1905, no. 20, p. 1400—1403).

Horder, Th. J., Observations upon the importance of blood-cultures with an account of the technique recommended (Practitioner vol. LXXV, 1905, no. 5, p. 611—622, 4 tavv.).

Kirstein, F., Ein Besteck für die Blutentnahme bei typhusverdächtigen Personen (Zeitschr. f. Medizinalbeamte, Jahrg. XVIII, 1905, No. 16, p. 510—511, 1 Fig.).

Kraft, E., Winke für die Ausführung chemisch-bakteriologischer Arbeiten auf dem Gebiete der Harn-, Sputum-, Fäces- etc. Untersuchungen. Berlin 1905; 35 pp. 8°. 1 M.

Levaditi, Sur la coloration du Spirochaete pallida SCHAUDINN dans les coupes (C. R. Soc. Biol. t. LIX, 1905, no. 29, p. 326—327).

Schütze, A., Über den Nachweis EBERTH-GAFFKYscher Bazillen in der Cerebrospinalflüssigkeit bei Typhus abdominalis (Berliner klin. Wochenschr., Jahrg. XLII, 1905, No. 47, p. 1465—1468).

Selter, Über Sporenbildung bei Milzbrand und andern sporenbildenden Bakterien (Zentralbl f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXVII, H. 2, p. 186; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 573).

Smith, E. F., Bacteria in relation to plant diseases. Vol. 1. Methods of work and general literature of bacteriology exclusive of plant diseases. Washington D. C., 1905. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 580.)

Tartuferi, F., Su di una terza nuova impregnazione metallica dei tessuti e specialmente della cornea (Ann. Ottalmol. Anno XXXIV, 1904, fasc. 1, 2, p. 74—78; Rendic. Accad. Soc. med.-chir. Bologna 1904, p. 589—592; Bull. Sc. med. Anno LXXV, 1904).

Willson, H. S., The isolation of B. typhosus from infected water, with notes on a new process (Journ. of Hyg. vol. V, 1905, no. 4, p. 429—443).

Winkler, H. v., Über einige Hilfsmittel für bakteriologische Arbeiten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XXXIX, 1905, H. 4, p. 483—487, 1 Fig.).

---

c. Botanisches.

Ferguson, M. C., Contributions to the knowledge of the life history of Pinus with special reference to sporogenesis, the development of the gametophytes and fertilization (Proc. Washington Acad. Sci. vol. VI, 1904, p. 1—202, pls. 1—24; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 584).

Grafe, V., Eine neue Reihe von Holzreaktionen (Österr. Botan. Zeitschr. Bd. LV, 1905, p. 174; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 581).

Haberlandt, G., Über die Plasmahaut der Chloroplasten in den Assimilationszellen von Selaginella Martensii Spring. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XXIII, 1905, H. 9, p. 441; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 584).

Hus, H. T. A., Spindle Formation in the Pollen-Mother-Cells of Cassia tomentosa B. (Proc. of the California Acad. of Sci. 3. Ser. Bot. vol. II, 1904, no. 11, p. 329—354; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 582).

Thomson, R. B., The Megaspore-membrane of the Gymnosperms (University of Toronto Studies. Biological Series, 1905, no. 4; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 583).

---

d. Mineralogisch-Petrographisches.

Bäckström, H., Ein Kugelgranit von Spitzbergen (Geol. Föreningens: Stockholm Förhandlinger Bd. XXVII, 1905, p. 254—259 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 588).

Brunnee, R., Polarisations-Mikroskoppolymeter (Zentralbl. f. Min., Geol. u. Paläont. 1905, p. 593—595 m. 1 Fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 586).

Prytz, K., Mikroskopische Bestimmung der Lage einer spiegelnden Fläche. Optischer Kontakt (Ann. d. Phys. [IV] Bd. XVI, 1905, p. 735—746; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 588).

Rosenbusch, H., Mikroskopische Physiographie der Mineralien und Gesteine. Ein Hilfsbuch bei mikroskopischen Gesteinsstudien. 4. Aufl., Bd. I, 2. Hälfte; VIII + 402 pp. m. 20 Tfln., 206 Figg. und einem Anhang: Hilfstabellen zur mikroskopischen Mineralbestimmung. Stuttgart 1905. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 586).

Weinschenk, E., Über die Skelettteile der Kalkschwämme (Zentralbl. f. Min., Geol. u. Paläont. 1905, p. 581—588; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXII, 1905, p. 587).

Autoren-Register.

Sach-Register.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

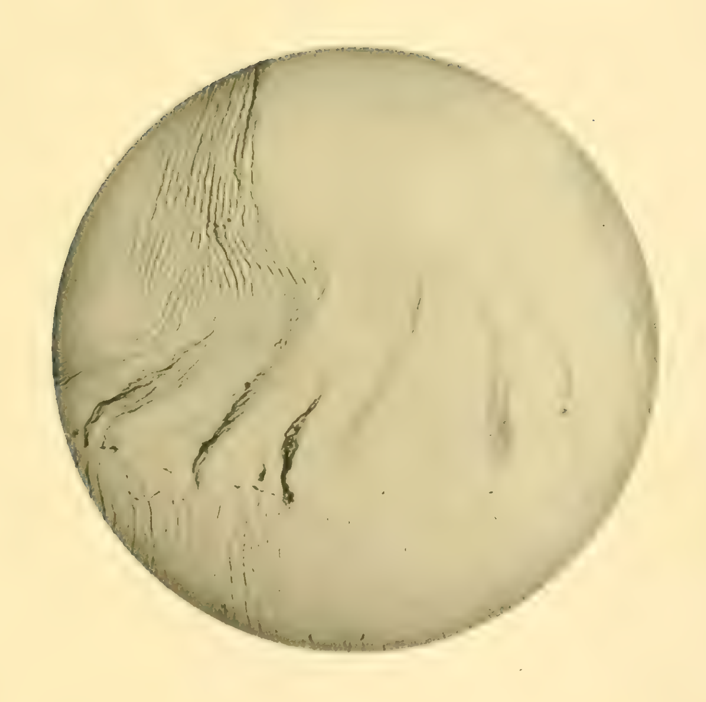




P. Fiorentini

Verlag von S. Hirzel, Leipzig.





Verlag von S. Hirzel, Leipzig. Lichtdruck v. Sinsel & Co., G. m. b. H., Oetzsch-Leipzig.





Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Lichtdruck v. Sinsel & Co., G. m. b. H., Oetzsch-Leipzig.





Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Lichtdruck v. Sinsel & Co., G. m. b. H., Oetzsch-Leipzig.









